

**T.C.**  
**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**  
**Prof. Dr. Adil KARTAL**  
**ANABİLİM DALI BAŞKANI**

**KAS DOKUSUNUN HİPOKALSEMİYE YANITI ÜZERİNE CİNSİYETİN VE SEKS**  
**STEROİDLERİNİN ROLÜ**  
**(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

**UZMANLIK TEZİ**  
**S. SAİD KÖKÇAM**

Tez Danışmanı  
**DOÇ. DR. ŞAKİR TEKİN**

**KONYA 2009**

## İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	1
TEŞEKKÜR.....	2
1. AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	5
3. MATERYAL VE METOD.....	10
4. BULGULAR.....	15
5. TARTIŞMA.....	28
6. ÖZET.....	35
7. SUMMARY.....	37
8. KAYNAKLAR.....	39

## TEŞEKKÜR

Bu çalıőmanın fikir babası ve Genel Cerrahi Anabilim Dalı başkanı sayın Prof. Dr. Adil KARTAL'a, tez hocam sayın Doç. Dr. Şakir TEKİN'e, çalıőmanın yapılmasında büyük emeği olan ve deneyleri beraber gerçekleőtirdiėimiz Biyofizik Anabilim Dalı ėretim yesi sayın Doç. Dr. Murat AYZ'a ve asistanı sayın Yusuf KKBAėRIAIK'a, çalıőmanın yapılması esnasında bizden desteklerini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Mustafa ŐAHİN'e ve diğer ėretim üyelerimize teşekkür ederim.

16/06/2009

Dr. Said KÖKÇAM

## 1. AMAÇ

Tiroid hastalıkları günümüzde hala, sık rastalanan hastalıklar arasındaki yerlerini korumaktadırlar. Tiroid hastalarının önemli bir bölümü cerrahi tedavi gerektirmektedir. Tiroidin benign hastalıklarında total tiroidektomi tercih edilen tedavi yöntemidir, malign hastalıklarında ise ihtiyaca göre ek cerrahi yöntemler (servikal disseksiyon vb.) uygulanmaktadır. Daha agresif olan radikal işlemler kalıcı postoperatif hipokalsemi riskini artırmaktadır. Hipokalsemi tiroid cerrahisinden sonra en sık görülen komplikasyondur (bazı kaynaklarda %68'e kadar çıktığı bildirilmiştir). Gelişen tedavi yöntemlerine rağmen postoperatif hipokalsemi günümüzde, hala önemli bir problem olmaya devam etmektedir.

Postoperatif hipoparatiroidi neticesinde gelişen hipokalsemi süresine göre geçici veya kalıcı olarak sınıflandırılmaktadır. Geçici hipokalsemi klinik semptomların ve laboratuvar değerlerinin 6 ay içinde spontan olarak düzeldiği durum olarak tanımlanmakta, 6 aydan uzun süren klinik hipoparatiroidi ise kalıcı olarak kabul edilmektedir. Kalıcı hipokalsemiler paratiroid bezi fonksiyonlarının kalıcı kaybına bağlıdır. Ancak tiroidektomi sonrası görülen hipokalsemilerin çoğu geçici karakterdedir. Bizim de postoperatif hipokalsemi gelişen vakalarımızın büyük bir bölümünü geçici hipokalsemiler oluşturmaktadır.

Paratiroid bezlerin iatrojenik cerrahi travmaya maruz kalması, insidental olarak çıkarılması, geride kalan fonksiyon gören glandların sayısı, cerrahinin genişliği, cerrahin tecrübesi, hipertiroidi, retrosternal guatr, eş zamanlı boyun disseksiyonu, tiroid kanseri ve özellikle tiroid üzerine yönelik ikincil girişimler gibi bazı faktörlerin postoperatif hipokalsemi riskini artırdığı bilinmektedir. Ancak hipokalsemi riskini artıran bu faktörlerden mümkün olduğunca kaçınılmasına rağmen yine birçok hastada postoperatif hipokalsemi gelişmektedir.

Postoperatif hipokalsemi hastanede kalış süresini uzatmakta, gerekli laboratuvar testlerinin sayısını artırmakta, hastaların günlük hayatlarına dönüşlerini geciktirmekte neticede artan sağlık harcamalarına ve iş gücü kayıplarına yol açmaktadır. Hangi hastalarda postoperatif hipokalsemi gelişeceğinin tam olarak bilinmemesi ya hastaların gereğinden uzun süre hospitalize edilmelerine ya da eksterne edilen hastaların bir kısmının hipokalsemik semptomlarla tekrar hastaneye başvurmalarına, sonuçta hem hasta konforunun bozulmasına hem de neticede daha uzun süreli hastane yatışına neden olmaktadır. Her hastaya profilaktik tedavi başlamak, paratiroid bezlerini baskılamakta, fonksiyonlarının normale dönüşünü geciktirmektedir. İdeal olan postoperatif hipokalsemi gelişecek hastaların önceden tesbit edilmesi ve yalnızca bu hastalara tedavi başlanmasıdır. Ancak halen hangi hastalarda hipokalsemi gelişeceğini tam olarak bilmek olanaksızdır. Halen postoperatif hipokalsemi

riskini artırdığı bilinen faktörlerin yanısıra, henüz net olarak ortaya konmamış ancak postoperatif hipokalsemi riskini daha net öngörmemizi sağlayacak bazı başka faktörler de olmalıdır.

Geçici hipoparatiroidiye bağlı postoperatif hipokalsemik semptomların bayan hastalarda sıklıkla görülürken, erkek hastalarda bu semptomların nadir görülmesi dikkat çekicidir. Oysa ameliyat tekniği cinsiyete göre değişmemektedir. Aynı kalsiyum değerlerinde erkek hastalar asemptomatik iken kadın hastaların semptomatik hale geldiği görülebilmektedir. Bu durum semptomatik hipokalsemide yukarıda belirtilen nedenlerden başka faktörlerin de etkili olabileceğini düşündürmektedir. Deneysel olarak bu düşüncenin haklılık payını araştırmayı amaçladık.

Uyarılabilen hücre gruplarından oluşan çizgili kas dokusu, ekstrasellüler kalsiyum düzeylerine duyarlı bir dokudur. Bu doku hem kolaylıkla izole edilebilmekte hemde invitro olarak dış ortam kalsiyum düzeylerinin de ayarlanabilmesi mümkündür. Bu nedenle bir çizgili kas demeti olan soleus kas dokusunun hipokalsemiye yanıtı üzerine cinsiyet ve sex steroidlerinin etkisini ortaya koymayı amaçlayan bir çalışma tasarladık. Deneysel olarak, özelde iskelet kasının ve genelde uyarılabilir hücrelerin, kalsiyum metabolizmasının anlaşılması ve sex steroidlerinin hücreye etki mekanizmalarının aydınlatılmasının postoperatif hipokalseminin etyolojisine de yeni bir ışık tutabileceği kanısındayız.

## 2. GENEL BİLGİLER

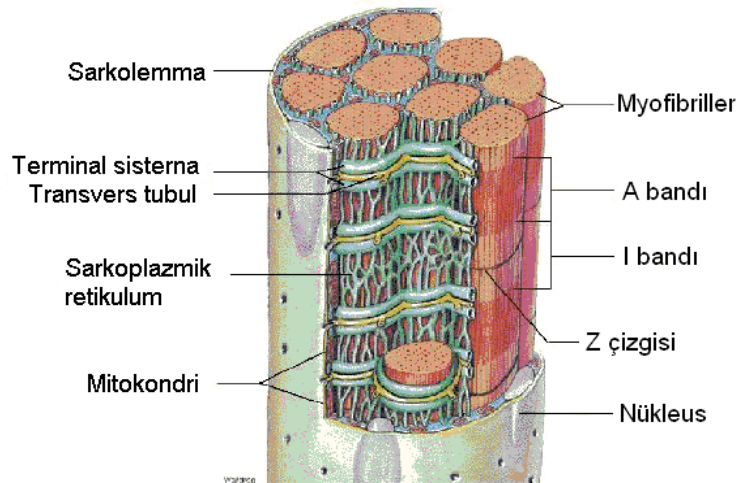
### Kas dokusu:

Kas hücreleri kimyasal enerjiyi mekanik enerjiye çeviren özelleşmiş hücrelerdir. Farklı yerleri ve fonksiyonları olan kaslar, başlıca iskelet kası, kalp kası ve düz kas olmak üzere üçe ayrılır. Bu çalışmada iskelet kasını ele almış olmamız nedeniyle bu kas tipi üstünde duracağız.

İskelet kası kontraksiyonu istemli olarak santral sinir sistemi tarafından kontrol edilir. Duruş, hareket konuşma, solunum gibi bir çok değişik görev icra eden iskelet kasları özelleşmiş görevleri nedeniyle birbirlerinden birtakım farklılıklar gösterir.

### İskelet kasının yapısı:

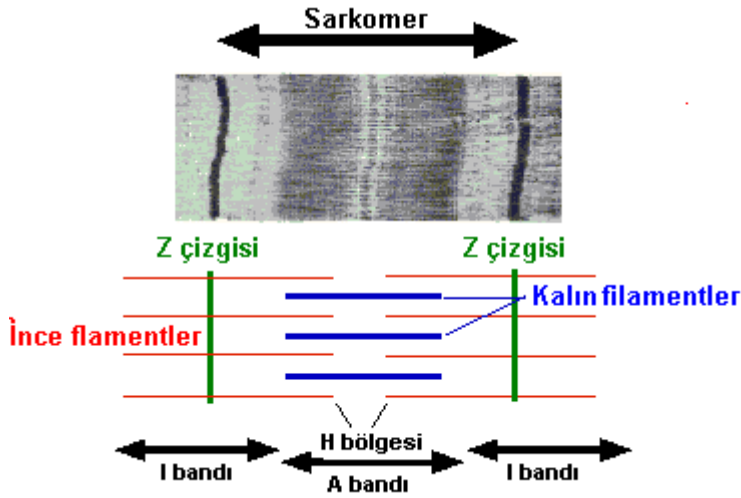
İskelet kası, kas lifi denilen hücrelerden oluşur. Her kas lifinin etrafında endomisyum denilen bir bağ dokusu bulunur. Kas lifleri fasiküller halinde toplanırlar ve perimisyum bu fasikülleri çevreler. Perimisyum içerisinde yer alan damarlar kas liflerinin beslenmesini sağlarken buradaki sinir uçları her kas lifini ayrı ayrı innerve eder. Perimisyumla gruplanan kas fasikülleri dışarıdan epimisyumla sarılarak kası oluşturur. Epimisyum kası iskelete bağlayarak hareketleri iletir.



**Şekil 1** Bir iskelet kası hücresinin yapısı. Sarkolemma içerisinde myofibriller görülmekte.

İskelet kası hücreleri ~ 10 ila 80 µm çapında olmakla beraber oldukça uzun olabilirler (uzunlukları 25 cm'i bulabilir). Her hücre kontraksiyonu sağlayan düzenli bir şekilde dizilmiş bir myofibril demeti içerir. Hücrede kasılmayı sağlayan miyofibriller, hücrenin bir ucundan diğerine dek uzanır. Miyofibriller içerisindeki kontraktıl proteinler; ince aktin ve kalın myozin filamentlerinin düzenli dizilimi hücrenin çizgili görünümünden sorumludur.

Her myofibril, sarkomer denilen arka arkaya dizilmiş çok sayıda kasılma ünitesi içerir. Sarkomerler birbirlerinden Z çizgisi olarak isimlendirilen koyu çizgilerle ayrılır. Bir sarkomerin dinlenme halinde ortalama uzunluğu 2 µm'dir. Her iki Z çizgisinden aktin filamentleri birbirlerine doğru ve ortadaki myozin filamentinin üstüne doğru uzanır. Z çizgisinden myozin filamentlerinin başlangıcına kadar olan açık renkli bant, I bantı olarak adlandırılır. Her iki I bantı arasında kalan myozin filamentlerini içeren koyu renkli bant A bantıdır. A bantının ortasında aktin filamentlerinin olmadığı nisbeten açık renkli alan H bantı olarak bilinir. Sarkomerin ortasında bulunan ve kalın filamentlerin bir hizada dizilişlerinden sorumlu proteinleri içeren koyu renkli çizgi M çizgisidir.



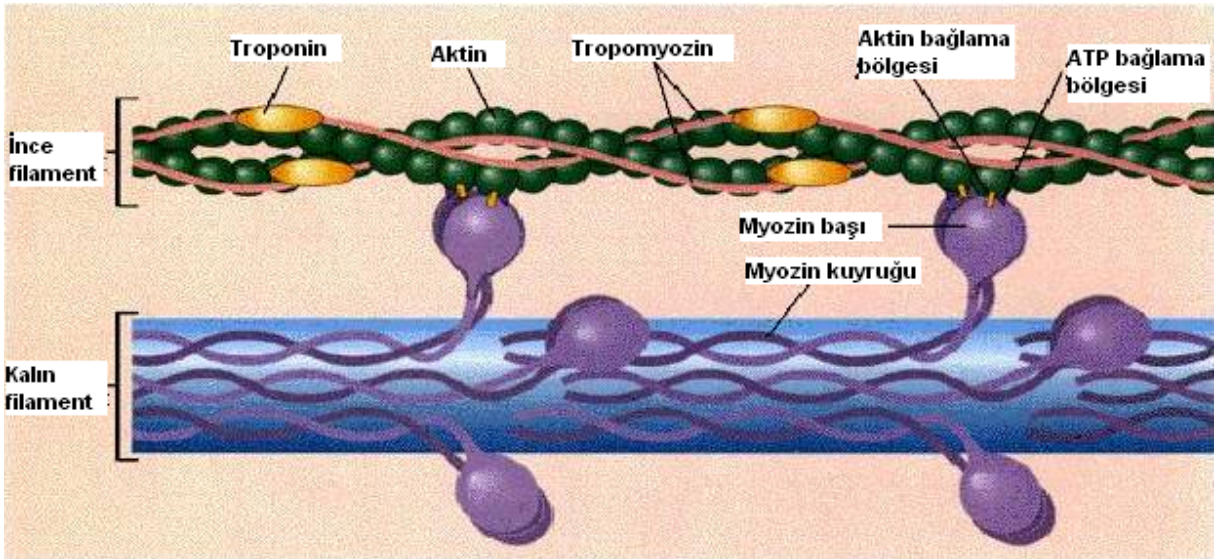
**Şekil 2** Myofibrilleri oluşturan sarkomer ünitesi. Şekilde Z çizgisi, A ve I bantları ve H bölgesi görülmekte.

İskelet kasındaki her myofibril sarkoplazmik retikulum (SR) ile sarılıdır. SR kas kontraksiyonunda kritik bir role sahiptir. Kas hücre membranı sarkolemanın içe doğru yaptığı kıvrımlara T-tübülleri denir. Bu tubuller hücre dışı ile doğrudan bağlantılıdır. T tubulleri A bandının dış kenarı yakınından kas lifi içine girer. SR terminal sisternası T-tubul yakınında yer alır ve kasılma için gerekli kalsiyumun hücre içine salınımından sorumludur. SR'un uzun olan bölümü de kas gevşemesinin sağlanması için gerekli kalsiyum pompa proteinlerini ( $Ca^{+2}$ ATPaz) içerir.

### Kas kontraksiyonunun mekanizması:

Aktin molekülleri birleşerek filamentöz aktini oluşturur. Aktin molekülü üzerindeki aktif myozin bağlanma bölgeleri dinlenme halinde tropomyozin dimerleri tarafından kapatılmıştır. Tropomyozin dimerleri üzerinde üç alt birimden oluşan (troponin-T, troponin-I, troponin-C) Troponin molekülleri bulunur. troponin-T tropomyozin'e bağlanır, troponin-I myozinin aktine bağlanmasını engellemeye yardımcı olur, troponin-C ise  $Ca^{+2}$  molekülleri varlığında kalsiyumu bağlayarak tropomyozinin hareketini, aktin üzerindeki aktif bölgelerin açılmasını sağlar.

Myozin filamentini oluşturan myozin molekülleri 1 ağır ve 2 çift hafif zincirden oluşur. Hafif zincirlerden 1 çifti (esansiyel hafif zincirler) kontraksiyonda kimyasal enerjinin kullanılmasından sorumlu ATPaz aktivitesini sağlar. Diğer hafif zincir çiftinin düzenleyici olduğu düşünülmektedir.



**Şekil 3** Aktin ve myozin filamenti. Kontraksiyon esnasında birbirleriyle ilişkileri görülmekte.

Her iskelet kası bir alfa nöron tarafından innerve edilir. Bu alfa nöronların hücre gövdeleri medulla spinaliste, ventral boynuzda yer alır. Kasta motor sinir dallara ayrılır ve her dal farklı bir lifi innerve eder. Bir motor ünite motor nöron ve ona bağlı olan kas liflerinden oluşur. Hassas hareketlerden sorumlu kasların motor üniteleri küçükken, hassas olmayan, denge tonus vb. sorumlu kasların motor üniteleri daha büyüktür.



Motor nörondan çıkan impuls, dallara ayrılarak kas liflerinde motor son plak'a ulaşır. Motor son plaktan Asetilkolin salgısı olur, bu da iskelet kasında aksiyon potansiyelini başlatır. İskelet kasında aksiyon potansiyeli diğer kas tiplerinden farklı olarak oldukça kısa sürelidir (iskelet kasında 5 ms'den kısa, kalp kasında ise 200 ms'den uzun) . İskelet kaslarının aksiyon potansiyellerinin kısa süreli olması, lifin süratle kasılmasını sağlar.

Aksiyon potansiyeli sarkolemma boyunca ve T-tübülleriyle iletilir. Her T-tübülü kas lifi içine uzanarak komşuluğundaki 2 adet terminal sisterna ile ilişki kurar. T-tübülü ile terminal sisterna arasında ~ 15 nm'lik bir mesafe vardır. Bu boşlukta bulunan protein köprüleri T-tübülü terminal sisternaya bağlar. Bu kanala (T-tübül ile SR arasındaki protein köprülerinden oluşan kanal) ryanodin bağlanır, bu nedenle kanalı oluşturan protein molekülleri ryanodin reseptörü (RYR) olarak adlandırılmaktadır. RYR'nin T-tübül membranında bulunan ve bir L-tipi kalsiyum kanalı olan dihidropiridin reseptörü (DHPR) ile etkileşime girdiği sanılmaktadır. Kas hücresi kasılma için gerekli kalsiyumu SR içindeki depolardan sağlamakla birlikte terminal sisternadan  $Ca^{+2}$ 'un hücre içine salınabilmesi için DHPR boyunca dışarıdan hücreye kalsiyum girişi gereklidir. İskelet kası ekstraselüler  $Ca^{+2}$  yokluğunda veya DHPR'nin  $Ca^{+2}$  iletmesini engelleyen mutasyonların varlığında kasılamaz.

SR'da RYR koşuluğunda triadin ve kalsekestrin bulunmaktadır. Triadinin RYR ve DHPR arasındaki etkileşimde rolü olduğu düşünülmektedir. Kalsekestrin ise düşük afiniteli kalsiyum bağlayan bir proteindir. Kalsiyumun yüksek konsantrasyonunda depo edilmesine yardımcı olur ve RYR açıldığında SR'dan hücre içine hızla kalsiyum salınımını hızlandırır.

Terminal sisternadan  $Ca^{+2}$  serbestlenmesiyle hücre içi kalsiyum konsantrasyonu hızla artar. Serbest bırakılan  $Ca^{+2}$  troponin C'ye bağlanır ve aktin filamenti üzerinde tropomyozin molekülünün hareketini, böylece aktinin aktif bölgelerinin açılmasını sağlar. Açığa çıkan aktif bölgeye myozin filamenti bağlanır. Bu bağlanma komşu aktin filamentine bağlı tropomyozin molekülünü de etkileyerek toplam 14 kadar aktin bağlanma noktasının açığa çıkmasına neden olur. Helikal dizilimde olması nedeniyle bir myozin molekülünden uzanan başlar aynı anda çevresindeki ayrı altı aktin molekülü ile ilişkilidir. Myozin molekülünün ATPaz özelliği olan hafif zincirinin baş bölgesine dinlenme halinde ADP bağlıdır. Aktin molekülünün aktif bölgesi açığa çıkınca myozin başına bağlı ADP ayrılarak, myozin başı aktine bağlanır. Hidrolize edilmiş ATP den elde edilen enerjiyle yay gibi kurulmuş olan myozin, ileri doğru vuru hareketi yapar (myozin başı eğilir). Myozinin aktine bağlı olan baş bölgesine tekrar ATP

bağlanır ve hidrolize edilir. Bu esnada aktin üzerinde bağlı bulunmuş bölgeden ayrılan ADP bağlı myozin başı bir ilerdeki aktinin aktif bölgesine bağlanır. Az önceki hidroliz reaksiyonuyla depolanmış kimyasal enerjiyi kullanarak tekrar vuru hareketi yapar. Uyarı devam ettiği sürece myozin molekülü aktin flamanı üzerinde bu şekilde ilerler. Myozin flamanında çok sayıda myozin molekülü ve bunların aktif başları bulunması nedeniyle kasılma süresince başların bir kısmı bağlı iken bir kısmı da vuru hareketini yapmaktadır. Bu da kasın uyarı süresince gevşemesini engeller. Myozin flamanının her iki ucundaki moleküller, uçlardaki aktin flamanlarını birbirine doğru çekerek sarkomerin boyunu kısaltır. Myozin her vuruda aktini 10 nm. hareket ettirebilir. Myozinin kontraksiyon esnasında tekrarlanan bu döngüsüne çapraz köprü döngüsü adı verilir ve SR Kalsiyum-ATPaz (SERCA) pompası hücre içindeki kalsiyumu SR içine geri alana dek devam eder. Hücre içi ATP tükenirse kalsiyum SR içine geri alınmaz bu durumda kalsiyum SR içine geri alınıp aktin-myozin çapraz köprü bağları açılmaz sonucunda ölüm katılığı (rigor mortis) gelişir.

### 3. MATERYAL VE METOD

Çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu (31.07.2008 tarih ve 2008/29 sayılı karar) onayıyla, Selçuk Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (SÜDAM) ile Selçuk Üniversitesi Biyofizik Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Deneyler için 19'u dişi ve 19'u erkek olmak üzere toplam 38 adet erişkin Sprague Dawley türü sıçan kullanılmıştır. Rastgele seçilen bu hayvanlar cinsiyet ayrımına dikkat edilerek ve kafes başı dört hayvan olacak şekilde, sabit sıcaklık ( $22\pm 2\text{ C}^{\circ}$ ), nem (% 51) ve 12 saat aydınlık/karanlık döngüsüne sahip bir ortamda barındırılmış, ad-libitum beslenmiştir. Deneyler için gerekli olan tüm kimyasallar Sigma-Aldrich'ten teğmin edilmiştir.

#### Deney Gruplarının Oluşturulması

Toplamı 38 adet deney hayvanından 6 adet deney grubu oluşturulmuştur. Bu gruplardan ikisi kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Kullanılan denek gruplarının listesi tablo 1'de görülmektedir.

**Tablo 1:** Denek grupları

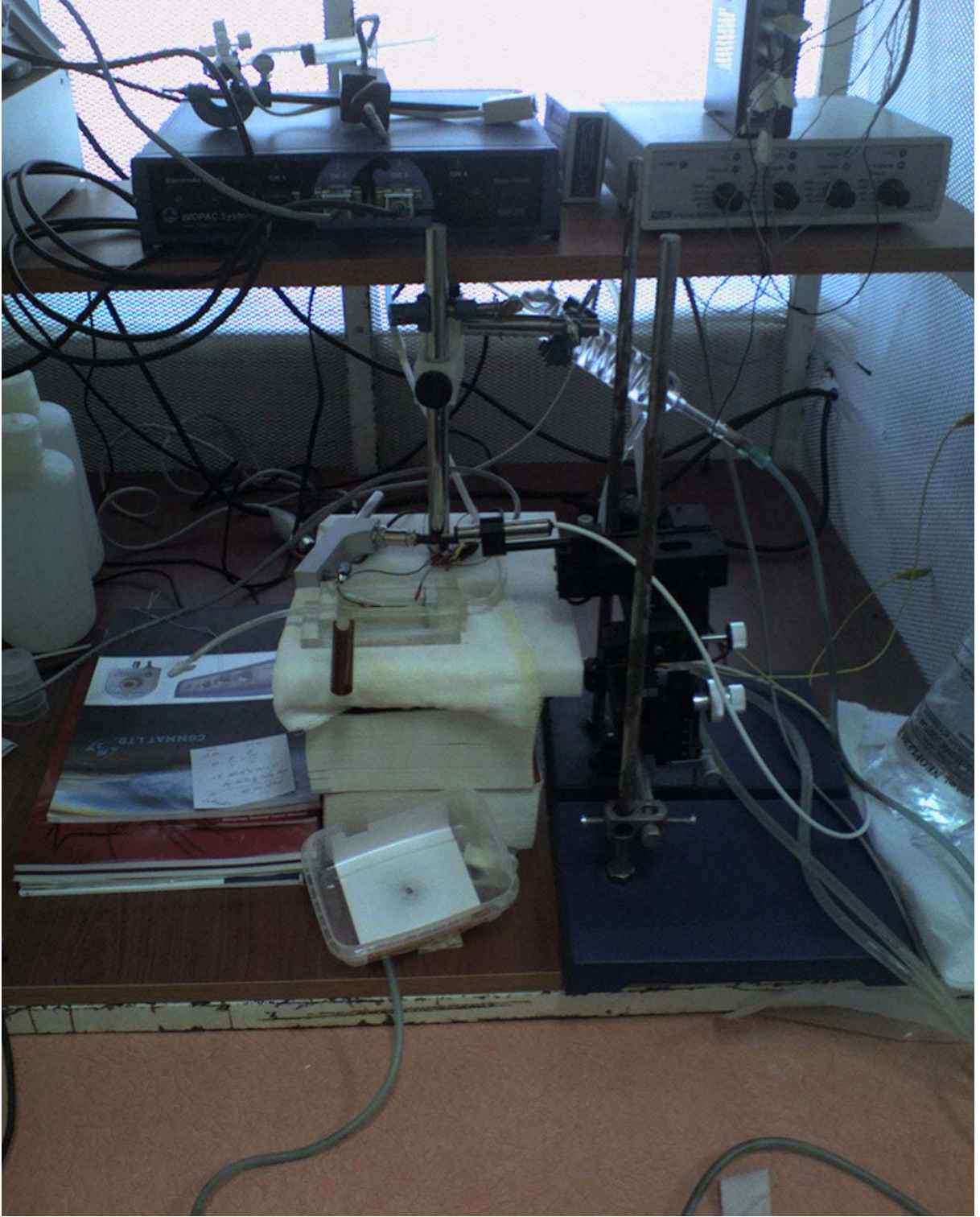
Grup	Adı	Açıklama	Sayı (n)
1	E	Kontrol Erkek	5
2	D	Kontrol Dişi	5
3	E-	Gonadektomize Erkek	7
4	D-	Gonadektomize Dişi	7
5	EX	Gonadektomi + Karşı cins sex steroidi uygulaması yapılan Erkek	7
6	DX	Gonadektomi + Karşı cins sex steroidi uygulaması yapılan Dişi	7

Grup 1 (E) bir ay boyunca herhangi bir müdahale yapılmadan diğer deneklerle aynı şartlarda takip edilen 5 adet erkek hayvan, grup 2 (D) ise yine herhangi bir müdahale yapılmadan bir ay boyunca takip edilen 5 adet dişi hayvandan oluşturuldu. Üçüncü grup (E-) orşiektomi yapılan ve sonrasında bir ay boyunca izlenen 7 erkek hayvandan oluşturuldu, dördüncü grup (D-) yine ooforektomi yapıldı ve bir ay boyunca izlenen 7 dişi rattan oluşturuldu. 7 adet erkek rattan oluşan 5. gruba (EX) orşiektomiye takiben bir ay boyunca  $5\mu\text{g}/100\text{mg}/\text{gün}$  estradiol IM uygulaması ve yine 7 dişi rattan oluşan 6. gruba (DX) ooforektomiye takiben bir ay boyunca  $100\text{mcg}/100\text{mg}/\text{gün}$  testosteron uygulaması yapıldı.

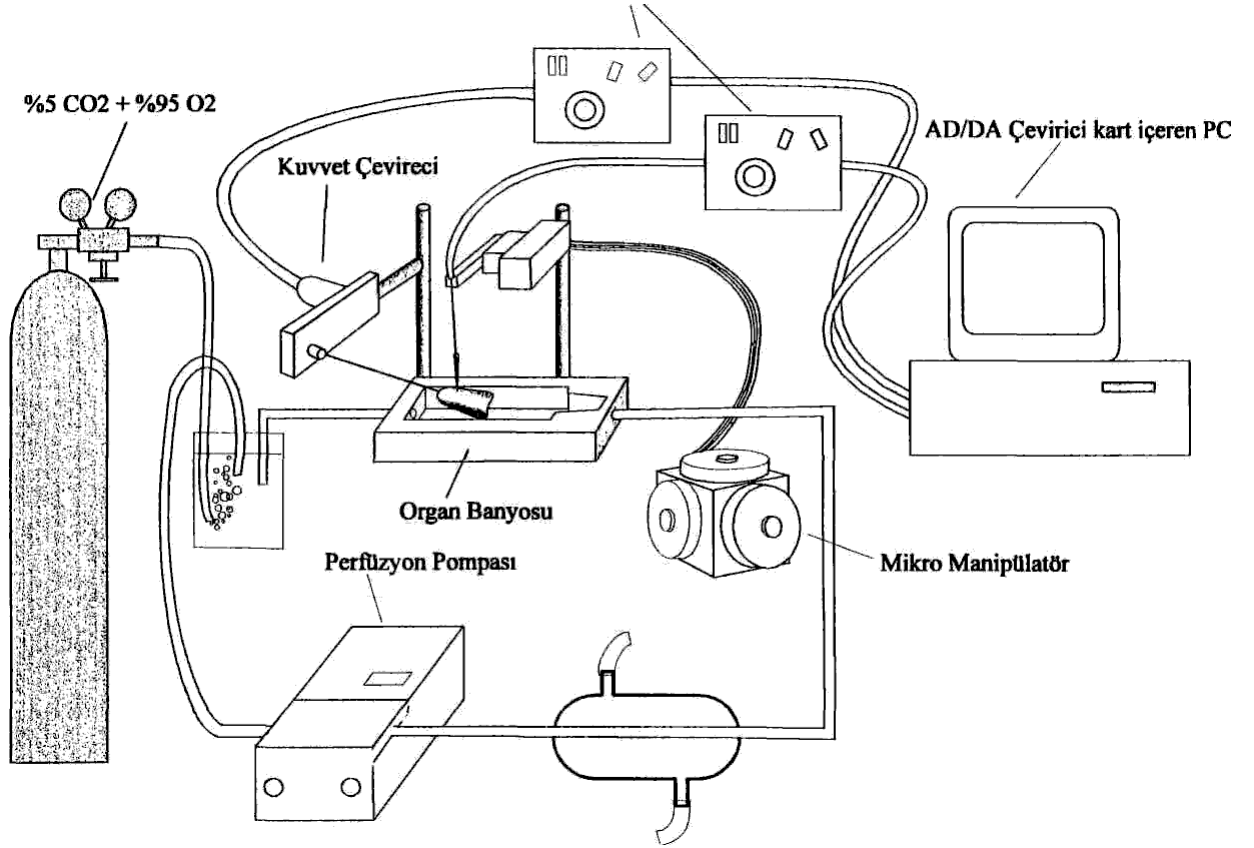
Bir aylık deney sürecinde grup 1, grup 2, deneyin başlangıcında cerrahi kastrasyon yapılan grup 3 ve grup 4'e herhangi bir ek uygulama yapılmadı. Cerrahi kastrasyon yapılan hormon gruplarına ise (grup 5 ve 6) düzenli olarak karşı cins sex steroidleri uygulaması yapıldı. 30 günlük takip süresinin tamamlanmasını müteakkip hayvanlar anestezi (ketamin 50 mg./kg.ve kslazin 10mg./kg.) altında hazırlandı, sol alt extremite medialine yapılan kesiyle cilt açıldı. Sol alt extremite cildi tamamen disseke edilip kaslar çıplaklaştırıldıktan sonra alttaki kaslara erişmek için M. biceps femoris kesildi. M. Soleus bulunduktan sonra origo ve insertio tendonları kesilerek tümüyle çıkarıldı. Soleus kası fleplerinin hazırlanmasını takiben çalışılan deney hayvanın sakrifikasyonu gerçekleştirildi.

### **Soleus Kas Fleplerinden Kasılma ve Tetanik Yanıtların Kaydedilmesi**

Hazırlanan kas flepleri modifiye Krebs solüsyonunun [(mM); 119 NaCl, 4,8 KCl, 1,8 CaCl<sub>2</sub>, 1,2 MgSO<sub>4</sub>, 1,2 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 20 NaHCO<sub>3</sub> ve 10 glikoz (pH=7,4)] içerisine yerleştirildikten sonra distal ucundan 7/0 ipek iplikle bağlandı. Daha sonra flepler içeriği yukarıda verilen taze Krebs çözeltisi (37C<sup>o</sup>de ve % 95 O<sub>2</sub> ve % 5 CO<sub>2</sub> ile sürekli gazlanan) sirkülasyonu sağlanan organ banyosuna alındı (Şekil 4). Kaslar serbest olan ucundan iğne elektrotla banyo tabanındaki muma sabitlenirken diğer uç bir kuvvet çevirecine (Grass FT03) bağlandı. Kas örneklerinin dengeye gelmesi için her kayıttan önce 30 dakika beklendi. Dengelenme periyodunun akabinde bir mikro manipulator aracılığı ile maksimum gerilme (kasılma) elde edilinceye kadar gerilen örnekler kayıt sistemi içinde entegre olan bir stimülatör (MP35) aracılığı ile kare biçimli eşik uyarının 2 katı genlikli, 3 ms süreli pulslar aracılığı ile uyarılarak, sonucunda oluşan yanıtlar ileri analizler için bilgisayara kaydedildi (Şekil 5).



Şekil 4 Kayıt için kullanılan organ banyosu ve sinyal amplifikatörü



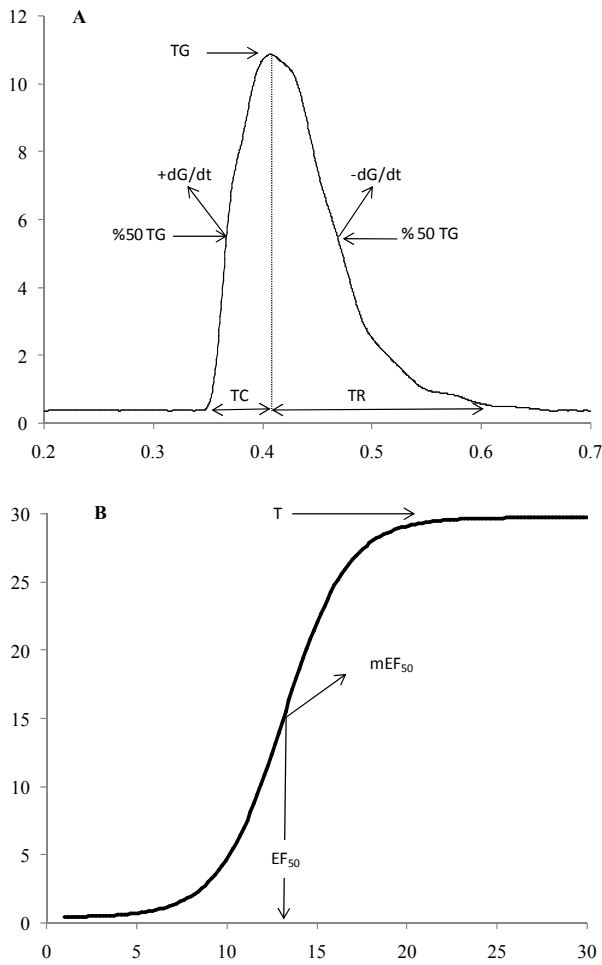
**Şekil 5** Denedeyde kullanılan kayıt düzeneğinin şematik gösterimi

Organ banyosuna yerleştirilen fleplerin üzerinden geçirilen modifiye krebs çözeltisi içindeki serbest kalsiyum derişimi fizyolojik 1.8 mM ve hipokalsemik koşulların sağlanması gerektiği durumda 0.9 mM olacak şekilde ayarlandı. 1.8 mM ve 0.9 mM  $Ca^{+2}$  derişimleri için tetanik kayıtlar alınmadan önce her iki derişim için normal kasılma kayıtları, supra-maksimal uyarın altında alındı. Kayıt esnasında önce serbest  $Ca^{+2}$  konsantrasyonu 0.9 mM olan Krebs çözeltisi uygulandı. Uyarı frekansı 1Hz'den başlanarak saniyede 1 Hz artırılmak suretiyle 30 Hz'e kadar artırıldı. 30 Hz uyarını takiben uyarı kesilip flepler 1.8 mM  $Ca^{+2}$  içeren Krebs solüsyonuyla perfüze edilerek 20 dakika dinlendirildi. Dinlenme periyodunu takiben kas flebi tekrar 1Hz'den başlayıp saniyede 1 Hz'lik adım artışları ile 30 Hz'e kadar artan frekanslarda uyarılarak yanıtlar kaydedildi. Elde edilen yanıtlar ileri analizler için bilgisayarın hard diskine depolandı. Her bir deney hayvanı için elde edilen veriler, ardışık beş kasılma kaydının ortalaması alınarak hesaplandı.

Kasılma ve tetanus kayıtlarının analizlerde kullanılan parametreler şekil 4-A ve 4-B'de sunulan orijinal birer örnek sarsı eğrisi üzerinde gösterilmektedir. Kaydedilen kasılma kayıtlarının analizi için tepe gerim (PT), kasılma ve gevşeme kinetikleri ( $\pm dP/dt$ ), kasılma

(TC) ve gevşeme (TR) süreleri kesaplandı. Tetanus kayıtlarının analizi için yanıt eğrileri bir program aracılığı (Graphpad Prism 5.0) ile Boltzman Sigmoidal dağılımlarına ( $y=y_{min}+(y_{min}-y_{max})/1+\exp((EF_{50}-x)/mEF_{50}))$ ) uyduruldu. Eğriler karşılaştırılırken tepe (T), tepe değerinin % 50'si için gerekli frekans değeri ( $EF_{50}$ ) ve  $EF_{50}$  eğimi ( $mEF_{50}$ ) değerleri kullanıldı.

Kaydedilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi için Graphpad prism 5.0 kullanıldı. Grupların bir birinden farklılıklarının testi one way Anova kullanılarak yapıldı. İki farklılığın miktarının tespiti için ise student t testi kullanıldı. İstatistiksel olarak  $P<0.05$  olan değerler anlamlı olarak kabul edildi.



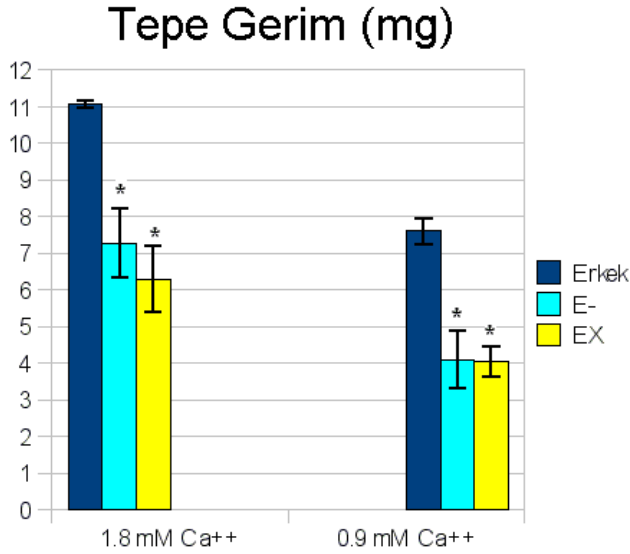
**Şekil 4** Kayıt analizleri için kullanılan örnek traseler: **(A)** Normal kasılma eğrisi ve **(B)** Uyarı frekansı/Kontraksiyon gücü eğrisi. A'da örnek kasılma eğrisi ve bu eğrinin analizi için kullanılan parametreler listelenmektedir. TG: Tepe gerim (mg); TC: Tepe gerime ulaşmak için gerekli olan süre (ms); TR: Tepe gerimden dinlenime geçmesi için gerekli süre (ms);  $\pm dG/dt$ : Tepe geriminin % 50'sindeki eğim değerleri (mg/ms). B'de sürekli uyarılarla sumasyon ve tetani (T) oluşumu gösterilmektedir.  $EF_{50}$  Maksimal tetanik kontraksiyonun yarısı kadar kontraksiyon oluşturmak için gerekli frekans değerini,  $mEF_{50}$   $EF_{50}$  noktasında eğrinin eğimini göstermektedir.

#### 4. BULGULAR

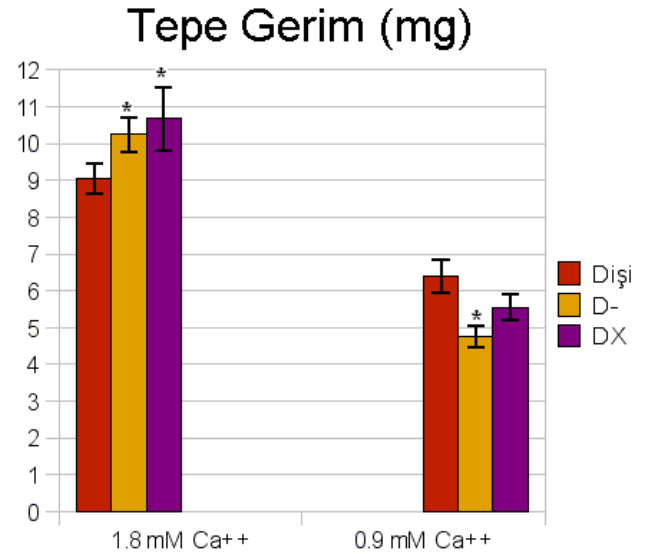
##### Normal kasılma tepe gerim (PT) değerlerinin karşılaştırılması:

Elde edilen tepe gerim (PT) değerleri Tablo 2’de sayısal olarak, şekil 7-A ve 7-B’de grafik olarak sunulmaktadır.

Fizyolojik kalsiyum konsantrasyonunda (1.8 mM Ca<sup>2+</sup>) gonadektomize erkek (E-) ve Gonadektomi ile birlikte karşı cins sex steroidi uygulaması yapılan erkek (EX) gruplarının PT değerleri erkek (E) grubuna göre anlamlı bir şekilde düşüktür E- ve EX grupları arasında ise PT açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Hipokalsemik (0.9 mM Ca<sup>2+</sup>) ortamda yine E- ve EX gruplarının PT değerleri E grubuna göre anlamlı olarak azalmış olarak bulundu (Şekil 7-A). Fizyolojik kalsium konsantrasyonunda Gonadektomize Dişi (D-) ve Gonadektomi ile birlikte karşı cins sex steroidi uygulaması yapılan dişi (DX) gruplarının PT değerleri Dişi (D) grubuna göre anlamlı olarak yüksektir. Hipokalsemik ortamda ise D- grubunun PT değeri D grubuna göre anlamlı derecede küçük olmasına karşın DX grubu ile D grubu PT değerleri arasında anlamlı fark tesbit edilemedi (Şekil 7-B).



Şekil 7-A E, E- ve EX grupları pT değerleri



Şekil 7-B Grup D, D- ve DX pT değerleri



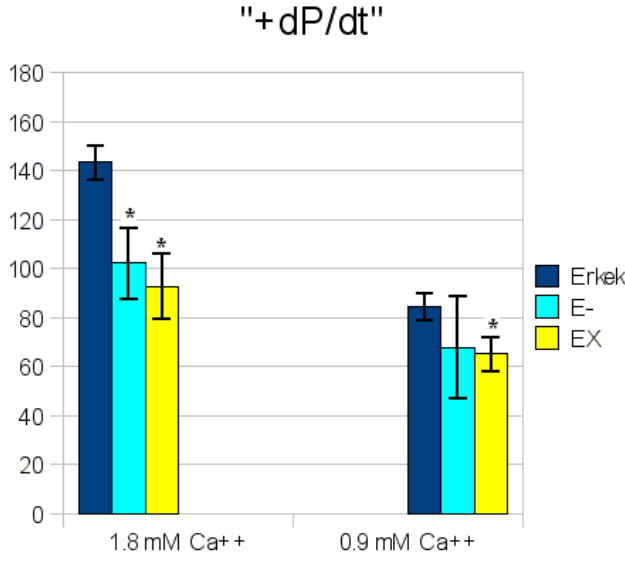
**Tablo 2: Peak Tension (PT) (mg) E, E-, EX, D, D- ve DX grupları ortalama PT değerleri**

Deney Grupları		1.8 mM Ca <sup>+2</sup>		0.9 mM Ca <sup>+2</sup>	
1	E (N=5)	11,07±0,11		7,60±0,34	
3	E- (N=7)	7,27±0,94	P < 0.05	4,09±0,78	P < 0.05
5	EX (N=7)	6,30±0,91	P < 0.05	4,04±0,43	P < 0.05
2	D (N=5)	9,05±0,42		6,38±0,45	
4	D- (N=7)	10,24±0,45	P < 0.05	4,77±0,29	P < 0.05
6	DX (N=7)	10,68±0,85	P < 0.05	5,55±0,35	

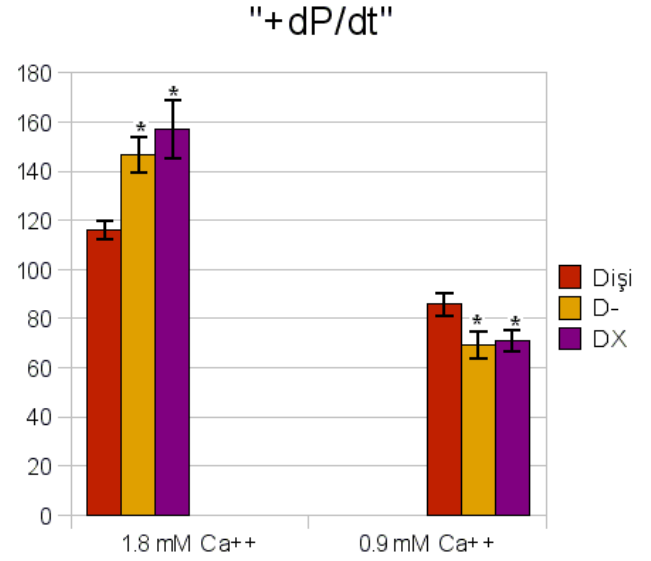
### **Normal kasılma hızı (+dP/dt) değerlerinin karşılaştırılması:**

Elde edilen ortalama kasılma hızı (+dP/dt) değerleri Tablo 3’de özetlenmiştir. Şekil 8-A’ da E, E- ve EX gruplarının, Şekil 8-B’de ise D, D- ve DX gruplarının kontraksiyon hızları karşılaştırılmaktadır.

1.8 mM Ca<sup>+2</sup> ortamında E- ve EX grupları kasılma hızı E grubu ile karşılaştırıldığında kasılma hızlarının anlamlı şekilde daha yavaş olduğu tesbit edildi. 0.9 mM Ca<sup>+2</sup> ortamında ise E- grubuyla bir anlamlılık bulunmazken EX grubu hayvanları için bulunan değerlerde anlamlı derecede kasılma hızının azalmış olduğu tespit edildi (Şekil 8-A). Dişi deneklerde yapılan deneylerde bu parametrenin karşılaştırılmasında 1.8 mM Ca<sup>+2</sup> konsantrasyonunda D- ve DX gruplarının kasılma hızları D grubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek bulundu. 0.9 mM Ca<sup>++</sup> konsantrasyonunda ise, D- ve DX gruplarının kasılma hızları D grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görüldü (Şekil 8-B).



Şekil 8-A E, E- ve EX grubu +dP/dt değerleri



Şekil 8-B D, D- ve DX grubu + dP/dt değerleri

**Tablo 3: +dP/dt E, E-, EX, D, D- ve DX grupları ortalama kasılma hızı değerleri**

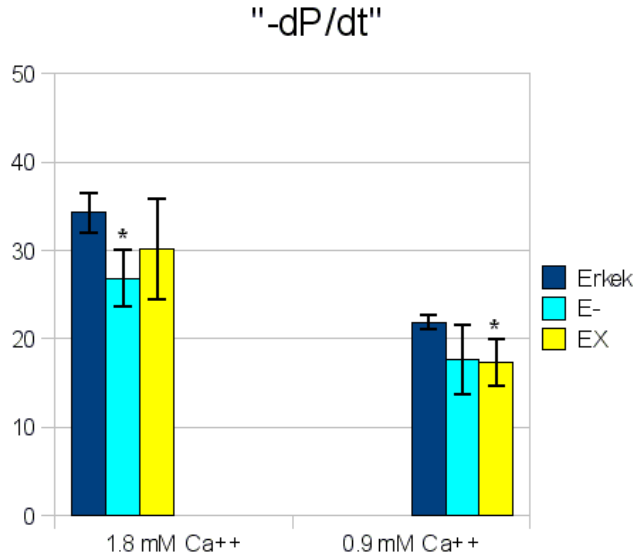
Deney Grupları	1.8 mM Ca <sup>+2</sup>		0.9 mM Ca <sup>+2</sup>		
1 E (N=5)	143,45±6,78		84,58±5,34		
3 E- (N=7)	102,37±14,37	P < 0.05	68,00±21,04		
5 EX (N=7)	92,88±13,24	P < 0.05	65,29±6,98	P < 0.05	
2 D (N=5)	115,89±3,83		85,92±4,57		
4 D- (N=7)	146,45±7,24	P < 0.05	69,32±5,59	P < 0.05	
6 DX (N=7)	157,22±11,77	P < 0.05	71,02±4,50	P < 0.05	

### Normal kontraksiyonda -dP/dt (gevşeme hızı) değerlerinin karşılaştırılması:

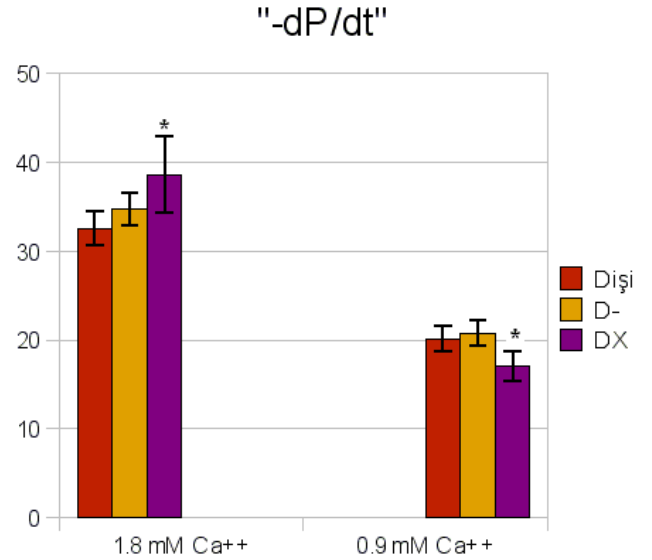
Gevşeme hızı (-dP/dt) değerleri Tablo 4'te sunulmaktadır. Şekil 9-A'da E, E- EX grubu gevşeme hızları, Şekil 9-B'de D, D- ve DX grubu relaksasyon hızları karşılaştırılmaktadır.

Fizyolojik kalsiyum konsantrasyonunda E grubuna göre E- grubu gevşeme hızı daha yavaş bulunurken, EX grubu sıçanları için bu değerde anlamlı bir fark bulunmadı. Hipokalsemik koşullar için E- grubu için anlamlı bir fark tespit edilmezken, EX grubu için gevşeme hızı E grubuna göre anlamlı dercede baskılanmış olarak bulundu (Şekil 9-A). 1.8 mM Ca<sup>+2</sup> konsantrasyonunda DX grubu gevşeme hızı D grubuna göre anlamlı olarak yüksektir. D- ve D grupları gevşeme hızı arasında bu konsantrasyonda anlamlı bir farklılık

saptanmadı. 0.9 mM Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonunda ise DX grubu gevşeme hızı D grubuna göre anlamlı olarak küçüktür. Hipokalsemik ortamda D- ve D grubu gevşeme hızları arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 9-B).



Şekil 9-A E, E- ve EX grubu -Slope değerleri



Şekil 9-B D, D- ve DX grubu -Slope değerleri

Tablo 4: -dP/dt E, E-, EX, D, D- ve DX grupları ortalama gevşeme hızı değerleri

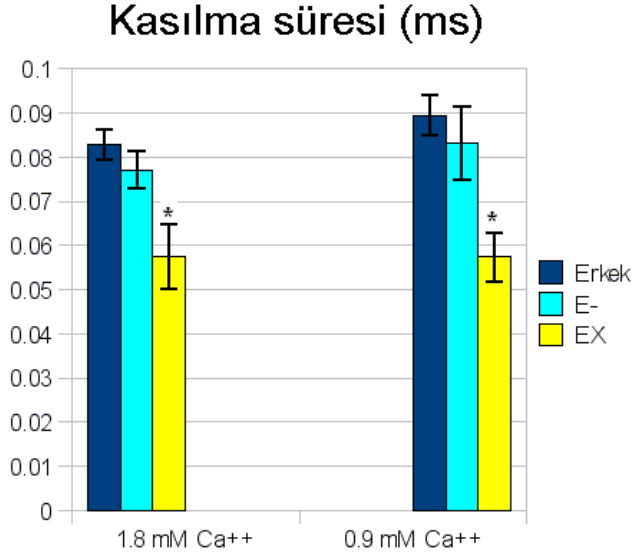
Deney Grupları	1.8 mM Ca <sup>2+</sup>		0.9 mM Ca <sup>2+</sup>	
1 E (N=5)	34,25±2,26		21,85±0,78	
3 E- (N=7)	26,87±3,26	P < 0.05	17,63±3,90	
5 EX (N=7)	30,14±5,72		17,27±2,65	P < 0.05
2 D (N=5)	32,57±1,87		20,16±1,46	
4 D- (N=7)	34,74±1,81		20,80±1,40	
6 DX (N=7)	38,63±4,26	P < 0.05	17,11±1,66	P < 0.05

#### Normal kontraksiyonda TC (tepe gerime ulaşma süresi) değerlerinin karşılaştırılması:

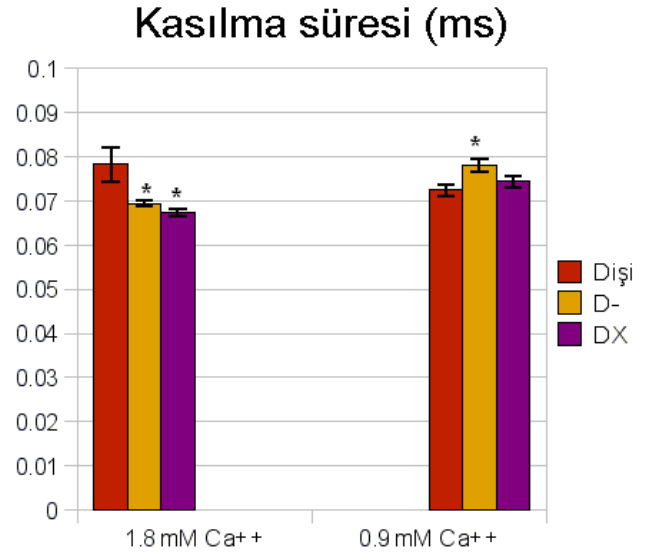
Bir kasılma sarsıısı için elde edilen tepe gerime ulaşma süreleri (TC) tablo 5'te gösterilmektedir. E, E- ve EX grupları TC değerleri Şekil 10-A'da, D, D- ve DX grubu TC değerleri şekil 10-B'de karşılaştırılmaktadır.

Fizyolojik kalsiyum konsantrasyonunda EX grubu tepe gerime çıkma süresi E grubuna göre anlamlı olarak kısadır, E- grubu ile E grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark

tesbit edilmedi. Hipokalsemik ortamda yine EX grubu tepe gerime ulaşma süresi E grubundan kısa, E- grubu ile E grubu arasında tepe gerime ulaşma süresi açısından anlamlı fark yoktur (Şekil 10-A). 1.8 mM  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunda D- ve DX gruplarının tepe gerime ulaşma süresi D grubuna kıyasla anlamlı olarak kısadır. 0.9 mM  $Ca^{+2}$  ortamda ise D- grubu TC değeri D grubuna göre uzun olmakla birlikte DX ve D grupları arasında tepe gerime ulaşma süresi açısından anlamlı fark yoktur (Şekil 10-B).



Şekil 10-A E, E- ve EX grubu TC değerleri



Şekil 10-B D, D- ve DX grubu TC değerleri

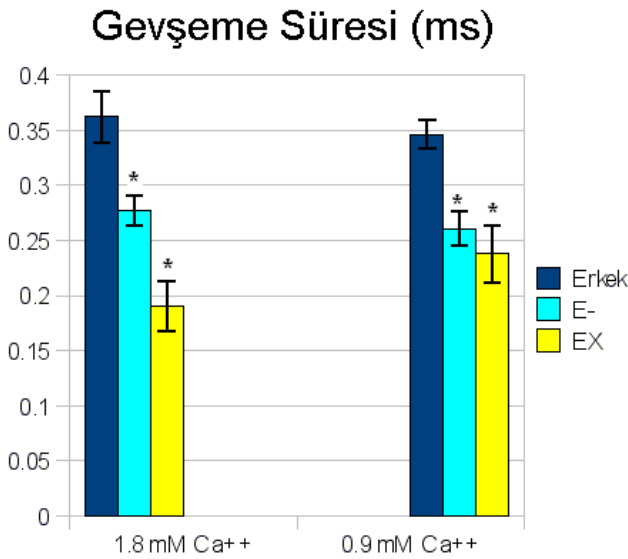
Tablo 5: TC (ms) E, E-, EX, D, D- ve DX grupları ortalama tepe gerime ulaşma süreleri

Deney Grupları	1.8 mM Ca <sup>+2</sup>		0.9 mM Ca <sup>+2</sup>	
1 E (N=5)	0,08±0,00		0,09±0,00	
3 E- (N=7)	0,08±0,00		0,08±0,01	
5 EX (N=7)	0,06±0,01	P < 0.05	0,06±0,01	P < 0.05
2 D (N=5)	0,08±0,00		0,07±0,00	
4 D- (N=7)	0,07±0,00	P < 0.05	0,08±0,00	P < 0.05
6 DX (N=7)	0,07±0,00	P < 0.05	0,07±0,00	

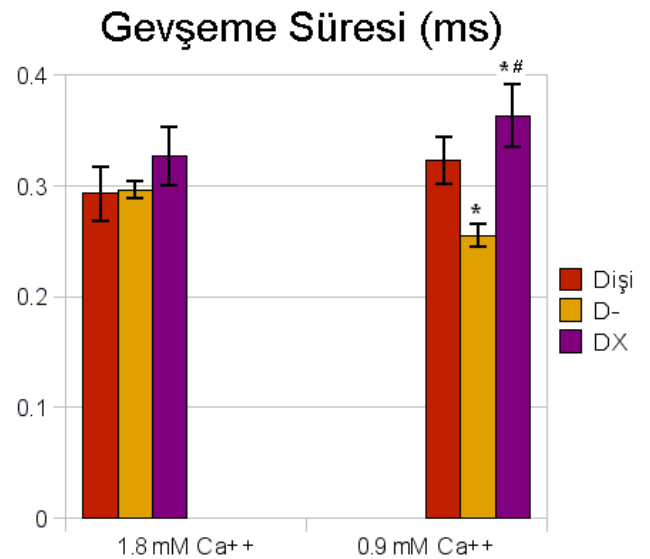
## Normal kontraksiyonda dinlenim gerimine dönüş süresi (TR ) değerlerinin karşılaştırılması:

Tablo 6’te E, E-, EX, D, D- ve DX gruplarının tepe gerim’den dinlenim gerimine dönüş süreleri (TR) gösterilmektedir. Şekil 11-A’da E, E- ve EX gruplarının TR değerleri, Şekil 11-B’de D, D- ve DX gruplarının TR değerleri karşılaştırılmaktadır.

1.8 mM Ca<sup>+2</sup> konsantrasyonunda E- ve EX gruplarının dinlenim gerimine dönüş süresi E grubuna göre anlamlı olarak kısadır. 0.9 mM konsantrasyonunda yine E- ve EX grubu TR değerleri E grubundan kısadır (Şekil 11-A). Fiziyolojik kalsiyum konsantrasyonunda D, D- ve DX grupları tepe gerimden dinlenim gerimine dönüş süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilemedi. Hipokalsemik ortamda ise D- grubu dinlenim gerimine dönüş süresi D grubuna göre anlamlı olarak kısa, DX grubu dinlenim gerimine dönüş süresi D grubuna göre anlamlı olarak uzundur. Yine DX grubu TR değeri D- grubuna göre anlamlı şekilde uzundur.



Şekil 11-A E, E- ve EX grupları TR değerleri



Şekil 11-B D, D- ve DX grupları TR değerleri

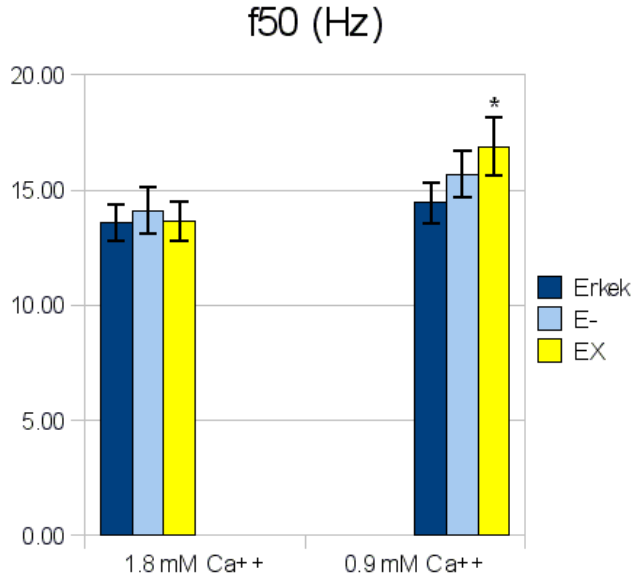
**Tablo 6: TR (ms) E, E-, EX, D, D- ve DX grupları ortalama gevşeme süreleri**

Deney Grupları		1.8 mM Ca <sup>+2</sup>		0.9 mM Ca <sup>+2</sup>	
1	E (N=5)	0,36±0,024		0,35±0,01	
3	E- (N=7)	0,28±0,01	P < 0.05	0,26±0,02	P < 0.05
5	EX (N=7)	0,19±0,02	P < 0.05	0,24±0,03	P < 0.05
2	D (N=5)	0,29±0,024		0,32±0,02	
4	D- (N=7)	0,30±0,01		0,26±0,01	P < 0.05
6	DX (N=7)	0,33±0,03		0,36±0,03	P < 0.05

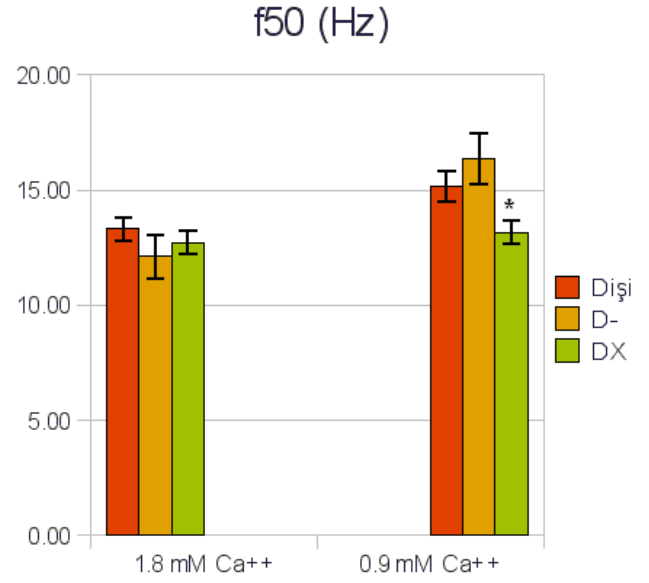
**Maksimal tetanik kontraksiyon değerinin yarısına ulaşmak için gereken frekans değerlerinin (f<sub>50</sub>=EF<sub>50</sub>) karşılaştırılması:**

Şekil 12-A'da E, E- ve EX gruplarının f<sub>50</sub> değerleri, Şekil 12-B'de D, D- ve DX gruplarının f<sub>50</sub> değerleri karşılaştırılmaktadır. Grupların 1.8 mM ve 0.9 mM kalsiyum konsantrasyonunki ortamlarda f<sub>50</sub> değerlerinin değişimi Şekil 13'te, değerlerin toplu bir dökümü Tablo-7'de görülmektedir.

Fizyolojik kalsiyum konsantrasyonunda E, E- ve EX grupları f<sub>50</sub> değerleri rasında anlamlı bir fark gözlenmemektedir. Hipokalsemik ortamda EX grubu f<sub>50</sub> değeri E grubundan yüksektir, E- ve E grupları arasında anlamlı fark saptanmadı (Şekil 12-A). 1.8 mM Ca<sup>+2</sup> ortamda D, D- ve DX grupları f<sub>50</sub> değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. 0.9 mM Ca<sup>+2</sup> ortamda ise DX grubu f<sub>50</sub> değeri D grubuna göre küçüktür, D- ve D grupları arasında anlamlı fark tesbit edilemedi (Şekil 12-B).



Şekil 12-A E, E- ve EX grupları f<sub>50</sub> değerleri

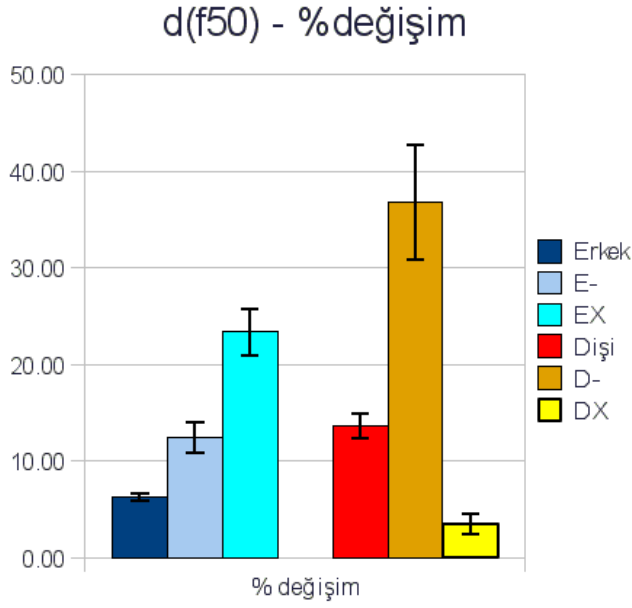


Şekil 12-B D, D- ve DX grupları f<sub>50</sub> değerleri

**Tablo 7: f<sub>50</sub> (Hz)** E, E-, EX, D, D- ve DX grupları ortalama f<sub>50</sub> değerleri

Deney Grupları		1.8 mM Ca <sup>+2</sup>	0.9 mM Ca <sup>+2</sup>	
1	E (N=5)	13,58±0,81	14,44±0,88	
3	E- (N=7)	14,12±1,02	15,69±0,98	
5	EX (N=7)	13,65±0,85	16,88±1,25	P < 0.05
2	D (N=5)	13,32±0,50	15,15±0,64	
4	D- (N=7)	12,12±0,94	16,38±1,10	
6	DX (N=7)	12,72±0,51	13,16±0,49	P < 0.05

Kalsiyum konsantrasyonunun değiştirilmesiyle f<sub>50</sub> değerlerinde olan değişimler karşılaştırıldığında; E- grubunun f<sub>50</sub> değeri değişimi E grubuna göre anlamlı derecede artmış olarak (P < 0.05), EX grubun f<sub>50</sub> değer değişimi ise hem E hem de E- grubuna göre anlamlı olarak yüksek olarak bulundu (P < 0.05). D- grubunun f<sub>50</sub> değer değişimi ise D grubuna göre anlamlı artmış (P < 0.05), DX grubunun f<sub>50</sub> değer değişimi de hem D- hem de D grubuna göre anlamlı derecede küçüktür (P < 0.05). E grubunun f<sub>50</sub> değer değişimi D grubuna göre anlamlı olarak küçüktür (P < 0.05) (Şekil 13).



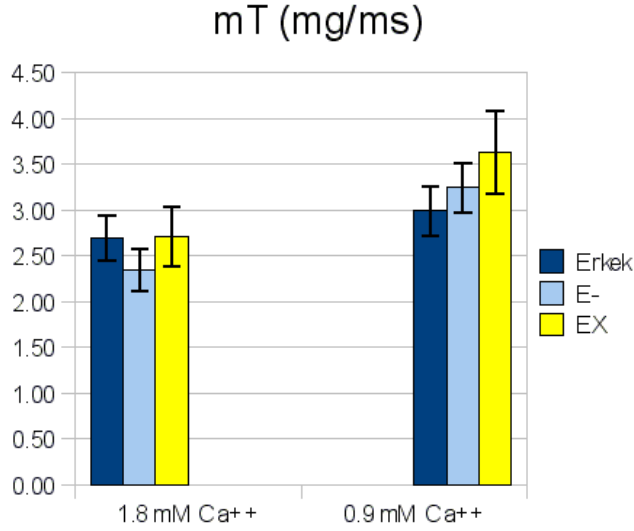
**Şekil 13** Deney gruplarının 1.8mM ve 0.9mM  $f_{50}$  değerlerinin değişimi gösterilmekte.

### **Maksimal tetanik kontraksiyona çıkış eğrisinin eğimi (mT) değerlerinin karşılaştırılması:**

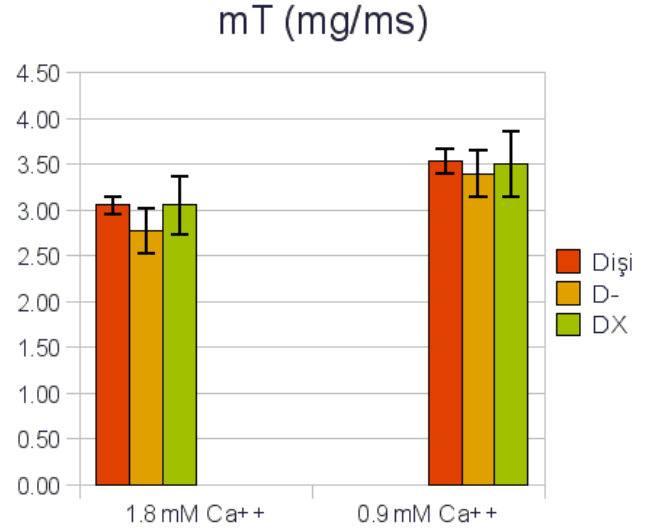
E, E- ve EX gruplarının 1.8 mM ve 0.9 mM  $Ca^{+2}$  ortamlardaki mT değerleri şekil 14-A'da, D, D- ve DX gruplarının mT değerleri şekil 14-B'de karşılaştırılmaktadır. Şekil 15'te tüm grupların kalsiyum konsantrasyonu değişimine karşı oluşan mT değişimlerinin karşılaştırılması görülmektedir. Değerler Tablo 8'de toplu olarak görülebilir.

1.8 mM  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunda E, E- ve EX grupları mT değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. 0.9 mM  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunda yine E, E- ve EX grupları mT değerleri arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (Şekil 14-A). Fizyolojik kalsiyum konsantrasyonunda D, D- ve DX grupları mT değerleri arasındaki fark anlamlı değildir. Hipokalsemik ortamda yine D, D- ve DX grupları mT değerleri arasında anlamlı bir fark tesbit edilemedi (Şekil 14-B).





Şekil 14-A E, E- ve EX gruplarına ait mT değerleri

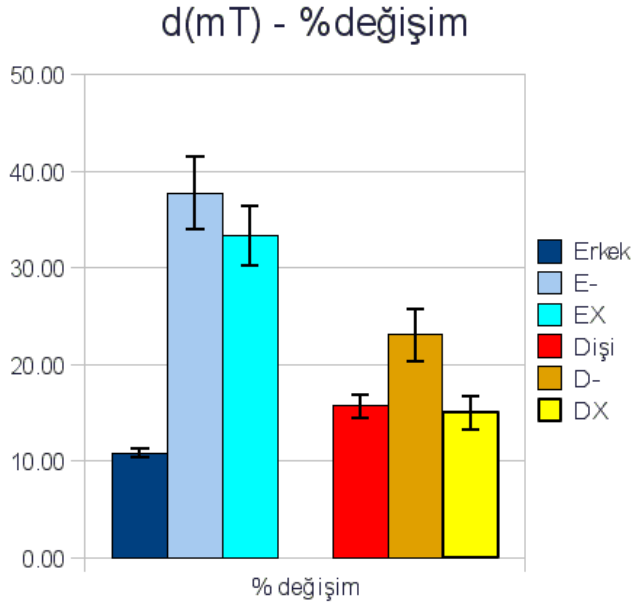


Şekil 14-B D, D- ve DX gruplarına ait mT değerleri

**Tablo 8: mT (mEF<sub>50</sub>)** E, E-, EX, D, D- ve DX grupların ortalama tetanik kontraksiyona çıkış eğrilerinin eğimleri

Deney Grupları		1.8 mM Ca <sup>+2</sup>	0.9 mM Ca <sup>+2</sup>
1	E (N=5)	2,70±0,25	2,99±0,27
3	E- (N=7)	2,34±0,23	3,25±0,27
5	EX (N=7)	2,72±0,33	3,63±0,45
2	D (N=5)	3,06±0,10	3,54±0,13
4	D- (N=7)	2,78±0,24	3,40±0,25
6	DX (N=7)	3,05±0,32	3,51±0,36

Ortam kalsiyum konsantrasyonu değişimi sonucu mT değerlerinde olan değişimler karşılaştırıldığında; E- ve EX gruplarının maksimal tetanik kontraksiyona ulaşma hızı değişimleri E grubuna göre anlamlı şekilde uzundur ( $P < 0.05$ ). D – grubunun mT değeri değişimi ise D ve DX gruplarına göre yüksektir ( $P < 0.05$ ). DX grubu ile D grubu maksimal tetanik kontraksiyona çıkış hızı değişimi arasında anlamlı bir farklılık görülmedi. E grubunun en yüksek tetanik kasılmaya çıkış hızı olan değişimi D grubuna göre anlamlı olarak küçüktür ( $P < 0.05$ ) (Şekil 15).

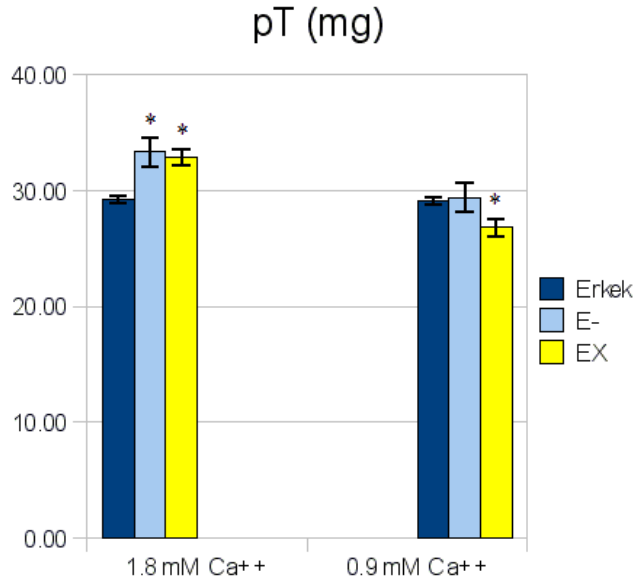


Şekil 15 Deney gruplarının 1.8mM ve 0.9mM mT değerlerinin değişimi gösterilmekte.

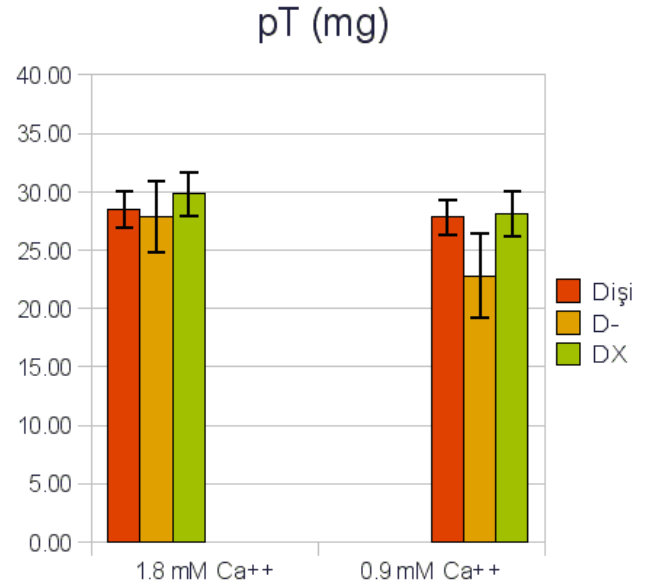
#### Tetanik uyarıda maksimal kasılma (pT) değerlerinin karşılaştırılması:

E, E- ve EX gruplarının 1.8 ve 0,9 mM  $Ca^{+2}$  konsantrasyonlarındaki maksimal tetanik kontraksiyon (pT) değerlerinin karşılaştırılması şekil 16-A'da görülmektedir. Şekil 16-B'de ise D, D- ve DX gruplarının 1.8 ve 0.9 mM  $Ca^{+2}$  ortamlardaki pT değerleri karşılaştırılmaktadır. Kalsiyum konsantrasyonundaki değişime karşılık grupların pT değerinde oluşan değişimler şekil 17'de birbirleriyle karşılaştırılmıştır. pT değerleri dökümü Tablo 9'da görülebilir.

Fizyolojik kalsiyum konsantrasyonunda E- ve EX grubu maksimal tetanik gerimleri E grubuna göre yüksektir. Hipokalsemik ortamda EX grubunun maksimal tetanik gerimi E grubuna göre küçüktür. E- ve E grubu pT değerleri arasında bu konsantrasyonda anlamlı fark bulunamadı (Şekil 16-A). Yine fizyolojik kalsiyum konsantrasyonunda D-, DX ve D grupları arasında pT değerleri açısından anlamlı fark tesbit edilmedi. Hipokalsemik koşullarda yine D-, DX ve D grupları pT değerleri arasında anlamlı fark görülmedi.



Şekil 16-A E, E- ve EX gruplarına ait pT değerleri

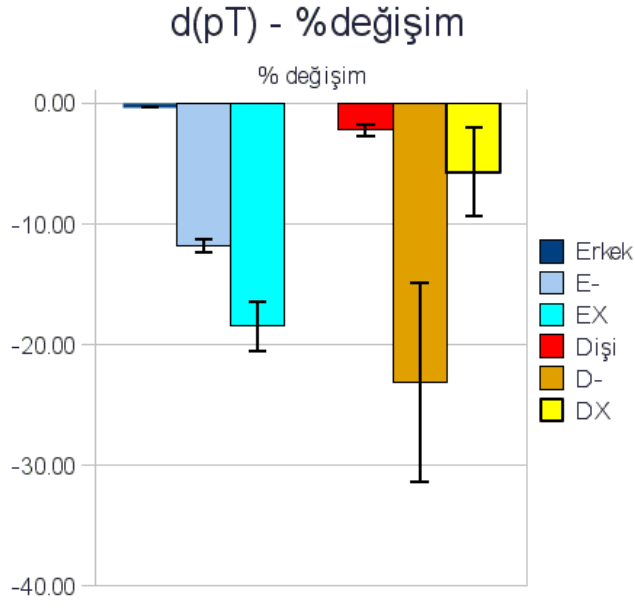


Şekil 16-B D, D- ve DX gruplarına ait pT değerleri

**Tablo 9: pT (mg) E, E-, EX, D, D- ve DX grupları ortalama maksimal tetanik kasılma gücü değerleri**

Deney Grupları		1.8 mM Ca <sup>+2</sup>		0.9 mM Ca <sup>+2</sup>	
1	E (N=5)	29,25±0,30		29,15±0,30	
3	E- (N=7)	33,34±1,24	P < 0.05	29,40±1,27	
5	EX (N=7)	32,92±0,69	P < 0.05	26,81±0,78	P < 0.05
2	D (N=5)	28,48±1,57		27,82±1,47	
4	D- (N=7)	27,89±3,02		22,79±3,59	
6	DX (N=7)	29,80±1,90		28,10±1,93	

Kalsiyum düzeylerindeki değişim neticesinde maksimal tetanik kontraksiyon gücünde olan değişimleri kıyasladığımızda; E- ve EX gruplarının maksimal tetanik kontraksiyon gücünde oluşan değişim E grubuna göre bariz şekilde büyüktür (P < 0.05). Yine EX grubunun tetanik kontraksiyon gücü değerleri değişimi E- grubuna göre anlamlı olarak büyüktür (P < 0.05). D- grubunun tetanik kontraksiyon gücünde olan değişim D ve DX gruplarına göre büyüktür (P < 0.05). DX ve D grupları arasında tetanik kontraksiyon değerlerinde olan değişim açısından anlamlı fark tesbit edilemedi. DX grubunun pT değer değişimi D-, E- ve EX gruplarına göre belirgin şekilde küçüktür (P < 0.05) (Şekil 17).



Şekil 17 Deney gruplarının 1.8mM ve 0.9mM pT değerlerinin değişimi gösterilmekte.

## 5. TARTIŞMA

Postoperatif hipokalsemi tiroid cerrahisi sonrası en sık karşılaşılan komplikasyondur (1-4). Literatürde postoperatif hipokalsemi %1.7'den %68'e kadar değişen oranlarda bildirilmektedir (5). Tiroid cerrahisi sonrası gelişen postoperatif hipokalseminin en sık nedeni ise geçici hipoparatioididir (6-11). Tanı ve tedavisindeki gelişmelere rağmen postoperatif hipokalsemi günümüzde, hala önemini korumaya devam etmektedir. Postoperatif hipokalsemi yalnızca hospitalizasyon süresini uzatarak değil bir yandan da yapılan mütekerriir laboratuvar testleriyle hastane maliyetlerini artırmaktadır (12-15). Postoperatif hipokalseminin erken belirlenmesi ve tedavisi konusunda bir çok çalışma (2,5,6,11,14,16-24) yapılmış ve hala bu konuda çalışmalar devam etmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda sıklıkla erken tanı ve semptomlar ortaya çıkmadan tedaviye başlama üzerinde durulmaktadır(25).

Yapılan araştırmalarda postoperatif hipotiroidinin erken belirlenmesinde bir takım parametrelerden yararlanılarak risk düzeyleri ortaya konulmaya çalışılmıştır. Bu parametrelerden bazıları: preoperatif, peroperatif ve postoperatif parathormon (PTH) değerleri, postoperatif PTH değerlerinin preoperatif PTH değerlerine oranı (2,19,23), preoperatif ve postoperatif kan kalsiyum düzeyleri, preoperatif hipertiroidi ve otoimmün hastalıkların varlığıdır (26). Bazı araştırmacılar postoperatif hipokalsemi oluşumunda preoperatif D vitamini düzeylerinin de belirleyici olduğunu bildirmektedirler (1,6).

Özellikle geçici postoperatif hipokalseminin semptomlar ortaya çıkmadan tanı konması ve tedavinin başlanması böylece hastada semptomların tamamen önlenmesi hastanede yatış süresini kısaltmakta, sonuçta yapılması gereken çok sayıda laboratuvar testlerine ihtiyacı ortadan kaldırmaktadır. Ancak henüz postoperatif hipokalsemi gelişecek hastaları tam olarak belirleyebilecek bir test yöntemi ortaya konulmamıştır. Bir takım araştırmacılar tiroid cerrahisi geçiren tüm hastalara postoperatif kalsiyum replasmanı ve D vitamini tedavisi başlanmasını önermekte (27) ise de bu yöntem paratiroid glandları baskılaması, endojen parathormon üretimini geciktirmesi nedeniyle (20, 28) ideal olmaktan uzaktır. Dolayısıyla postoperatif replasman tedavisi başlanması gereken semptomatik hale gelebilecek hastaları belirleyebilmek için risk faktörlerinin ve altında yatan nedenlerin ortaya konması gerekmektedir.

Postoperatif hipokalsemik semptomlar sıklıkla bayan hastalarda oluşmaktadır, erkeklerde ise semptomatik hipokalsemi son derece nadirdir (29). Bu durum şu ana kadar üzerinde çok fazla durulmamış olan cinsiyet faktörünün, postoperatif hipokalsemik

semptomların oluşum riskini belirlemede önemli bir faktör olduğunu düşündürmektedir. Cinsiyet ve sex steroidlerinin birçok organ ve sistemi etkilediği bilinmektedir, ancak nöromusküler sistem üzerindeki etkileri ve özellikle hipokalsemik semptomların oluşmasındaki rolleri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

Cinsiyet ve sex steroidlerinin kalp kası ve damar düz kası üzerindeki etkileri birçok araştırmaya konu olmuş, bu dokulardaki etkileriyle ilgili bir çok mekanizma açıklanmıştır. Buna karşın iskelet kası üzerinde cinsiyet ve sex steroidlerinin etkilerini inceleyen sınırlı sayıda araştırma vardır. Fonksiyonu farklı olmakla birlikte iskelet kasına olan yapısal benzerliği nedeniyle kalp kası ile ilgili yapılmış araştırmalar, iskelet kasındaki bir takım mekanizmaları açıklamaya yardımcı olabilir.

Kadın ve erkek kas dokusu arasında cinsiyet ve sex steroidlerinin etkilerini neticesinde yapısal açıdan ve metabolizma düzeyinde bir takım farklılıklar vardır. Erkek ve dişi ratların motor ünitelerinin farklarını araştıran bir başka çalışmada erkek ve dişi ratların medial gastroknemius kas flepleri karşılaştırılmış, dişilerin kaslarının egzersiz sırasında yorgunluğa erkeklerden daha dayanıklı olduğu gözlenmiştir(30, 31). Östrojen verilen erkek ratların da benzer şekilde yorgunluğa daha dayanıklı hale gelmesi, östrojenin de kas yapısı ve fonksiyonu üzerine bir takım etkileri olduğunu göstermektedir (31). Yapısal açıdan testosteronun anabolik etkisi ile kasta protein sentezini direkt olarak etkilediği ve kas kitlesinin artmasını sağladığı uzun süredir bilinmektedir (31). Yine testosteronun ve östrojenin iskelet kası enerji metabolizması üzerinde etkileri bulunmaktadır. Erkek ve dişi ratlara gonadektomi ve gonadektomiyi takiben karşıt cins hormon uygulaması yapılmış, deney sonunda gonadektomili dişi ratlarda kasın ATP içeriği, kreatinin fosfokinaz ve myokinaz enzimlerinin aktivitelerinin azaldığı, testosteron replasmanı yapılan gonadektomize erkek ve dişi ratlarda kasın ATP içeriğinin, kreatinin fosfokinaz ve myokinaz enzim aktivitelerinin dişi kontrol ratlarına göre anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir. Yine bu çalışmada gonadektomize erkek ratlara yapılan östrojen uygulaması bu değerlerde anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir (32).

Yaşamsal önemi nedeniyle kalp ve kalp kası metabolizması üzerinde yoğun bir şekilde durulmuş ve bu konuda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Kalp kasının iskelet kasına olan yapısal benzerliği nedeniyle, bu çalışmalardan bazılarında burada yer vermeyi uygun gördük.

Sex steroidlerinin kalp kası kalsiyum metabolizması üzerinde, kalsiyum düzenleyici proteinlerin sentezini düzenleyerek etkili olduğu bilinmektedir. İki gün'lük ratlardan hazırlanan kardiyak myositlerle yapılan bir çalışmada 8 saat testosteron uygulaması sonrası  $\beta 1$  adrenerjik reseptör ve L-tipi kalsiyum kanalı mRNA düzeylerinde maksimum artış olduğu, 24

saatlik uygulama sonrası Na/Ca değiş-tokuşucusu mRNA düzeylerinde yine maksimum artış sağlandığı gösterilmiştir (33). Aynı ekip yine bir başka çalışmalarında (34), gonadektomize erkek ratlarda kastrasyon sonrası Androjen reseptörü, Na<sup>+</sup>/Ca<sup>+2</sup> pompası, L-tipi kalsiyum kanalı ve β1 adrenerjik reseptör mRNA düzeylerinde anlamlı azalma olduğunu göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada testosteron replasmanı sonrası Na<sup>+</sup>/Ca<sup>+2</sup> pompası mRNA düzeylerinde 6 kat, L-tipi kalsiyum kanalı mRNA düzeylerinde 10 kat artış olduğunu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise testosteron uygulamasının kalp kasında L-tip Ca kanal yoğunluğunu ~ 2,5 kat artırdığı ve SR kalsiyum yükünü etkilemeksizin myosit kontraktilesini artırdığını gösterilmiştir (35).

Postoperatif hipokalsemik semptomları incelediğimizde bu belirtilerin esas olarak nörosensoryal ve nöromusküler kaynaklı olduğunu görmekteyiz. Çalışmamızda kalsiyum düzeylerindeki değişikliğe erkek deneklerden alınan kas dokularının yanıtları ile dişi deneklerden elde edilen kas dokularının yanıtlarını karşılaştırdığımızda, erkeklerden hazırlanan dokuların verdiği yanıtların kalsiyum düzeyindeki değişimden dişilere kıyasla daha az etkilendiğini görmekteyiz (df50=%6.26, dmT=%10.89, dpT=-0.35). Buna karşın dişilerden hazırlanan dokuların hipokalsemik ve normokalsemik ortamlarda verdiği yanıtlar arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (df50=%36.83, dmT=23.11, dpT= -23.12). Gonadektomi yapılan erkek hayvanlarda bu fark artarken (df50=%13.72, dmT=%15.72, dpT=-2.26) testosteron verilen gonadektomili dişi hayvanlarda bu farkın azalmış olması (df50=%3.52, dmT=%15.03, dpT=%-5.73) testosteronun hipokalsemiye doku direnci açısından önemli olabileceğini düşündürmektedir (Şekil 13, 15 ve 17).

Bilindiği gibi L-tipi kalsiyum kanalları tüm kas hücrelerinde, hücre zarının değişmez elemanlarından biridir. Bu kanallar kas kasılmasında görev almaktadır. Kas kasılmasında anahtar aşamalardan olan T-tübül'den SR'a sinyalin iletilmesinde bir L-tip kalsiyum kanalı olan dihidropiridin reseptörleri (DHPR) görev almaktadır (36). Testosteronun L-tipi kalsiyum kanalı ve diğer kalsiyum düzenleyici proteinlerin ekspresyonu artırması hipokalsemiye doku direncinin artmasını açıklamakta yardımcı olabilir.

Testosteronun hücre kalsiyum metabolizmasına, kalsiyum düzenleyici proteinlerin sentezi sonucu oluşan uzun süreli etkisinin yanı sıra akut etkisi de olduğu görülmüştür. Estrada M. Ve ark. iskelet kası hücre kültürü üzerinde yaptıkları çalışmalarında testosteron uygulamasından sonra 1 dakika içerisinde hücre kalsiyum düzeyinde hızlı fakat geçici bir yükselme olduğunu, bu düzeyin 5 dakika sonra normale döndüğünü gözlemlemişlerdir. Hücrede kasılmaya yol açmayan bu geçici yükselme spironolakton gibi testosteron

antagonistlerinden etkilenmemektedir. Eş zamanlı nükleusta da kalsiyum düzeylerinde yükselme olmasının erken genomik yanıtla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (37).

Kas histolojisi üzerinde yapılan çalışmalar da sex steroidlerinin etkileri üzerinde durmaktadır. Kobori M ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, erkek ve dişi ratlarda, gonadektomi ve östrojen uygulamasının soleus ve kaudofemoralis kas lifleri (tip 1, 2A ve 2B lifler) üzerindeki etkilerini incelenmiştir. Bu çalışmada orşiektominin tip 2B liflerin (Tip 2B lifler hızlı yanıtı, glikolitik kapasitesi yüksek ancak çabuk yorulan liflerdir) boyutlarında azalmaya neden olduğu, ooforektominin ise her 3 tip lifin boyutlarında artışa neden olduğu görülmüştür. Östrojen uygulaması ise hem erkek hem de dişi gonadektomize ratlarda kas lifi boyutlarının azalmasına neden olmuştur (38).

Sex steroidlerinin ekstrasellüler Ca konsantrasyonundaki değişime çizgili kas dokusunun yanıtı üzerindeki etkisini araştırmayı hedefleyen bu çalışmamızda gonadektomi yapılan erkek hayvanlarda kasılma kuvveti (PT) kontrol erkek hayvanlarına göre azaldığını gözlemledik (Şekil 7A), testosteron uygulaması yapılan dişi ratlarda ise uyarıya verilen kasılma yanıtı (PT) kuvvetlenmekteydi (Şekil 7B).

Yine gonadektomili erkek ratlarda kasılma hızı (+dP/dt) kontrol grubuna göre yavaşlarken (Şekil 8A), gonadektomi + testosteron uygulaması yapılan dişi ratlarda kasılma kontrol grubuna göre hızlanmış olarak bulundu (Şekil 8B). İskelet kası hücrelerinin kasılması SR'dan myoplazmaya salınan  $Ca^{+2}$ 'a bağlılık göstermektedir. Testosteronun kalsiyum düzenleyici proteinlerin sentezini artırması (33, 34) hücre içine kalsiyum salınımı hızında artışa, dolayısıyla kasılma hızında artışa neden olabileceğini düşündürmektedir.

Gonadektomize erkek ratlarda kas gevşeme hızı (-dP/dt) kontrol grubuna göre azalmakta (Şekil 9A), testosteron uygulaması yapılan gonadektomize dişi ratlarda ise kas gevşeme hızı kontrol grubuna göre artmaktadır (Şekil 9B). Kasın gevşeme süreci temel olarak, hücre içerisindeki kalsiyumun SR'a geri alınmasına bağlıdır ve kasın gevşeme hızı kalsiyumun hücre içi serbest derişiminin azalmasının bir göstergesidir. Bu da SERCA pompasının hızı (SR'a geri alım) ve kalsiyumun hücre dışına atılması hızlarına bağlıdır. Kalp kasında testosteron uygulaması sonucu  $\alpha 1$  ve  $\beta 1$  reseptörlerle uyarıya yanıtların arttığı gözlenmiş, bunun nedeninin Ryanodin reseptörü üzerinden hücre içine kalsiyum salınımı hızının, SERCA ve sarkolemmal  $Na^+/Ca^{+2}$  pompası vasıtasıyla kalsiyumun hücre içerisinden uzaklaştırılma hızının artmasına bağlı olduğu gösterilmiştir (39).

Kas hücrelerinin kasılma ve gevşeme hızını belirleyen önemli bir diğer faktör de kas hücrelerinin enerji metabolizmasıdır (40). Kas hücrelerinin hem kasılması esnasında kontraksiyon siklüsünün ilerlemesi için, hem de gevşeme esnasında hücre içindeki



kalsiyumun aktif olarak geri alınabilmesi için enerjiye yani ATP'ye ihtiyacı vardır. Dolayısıyla oksidatif fosforilasyonun olduğu mitokondri ve non-oksidatif mekanizmayla enerjinin elde edildiği glikoliz kas hücresi fonksiyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca mitokondri kasılmanın başlamasını sağlayan ve kalsiyum salınım birimi (KSB) olarak da adlandırılan T-tübül, SR ve I bandı üçlüsüyle yakın komşuluk içindedir (41). Hücre içine dışarıdan kalsiyum girişi ve SR'dan kalsiyum salınımı neticesinde artan kalsiyum konsantrasyonu mitokondride de kalsiyum konsantrasyonunu artırmakta, artan  $Ca^{+2}$  mitokondride oksidatif fosforilasyonu hızlandırmaktadır (40). Böylelikle mitokondri kasılma ve gevşeme esnasında artan enerji ihtiyacını karşılamada önemli bir rol oynamaktadır. Bunun yanı sıra mitokondriye kalsiyum girişinin engellenmesinin oksidatif fosforilasyon ağırlıklı kas hücrelerinde gevşemeyi geciktirdiği gösterilmiştir (42).

Tepe gerime ulaşma süresi açısından gonadektomize erkek ratlarla kontrol grubu arasında anlamlı fark tespit edilememiş, ancak gonadektomize erkek ratlar ile kontrol kıyaslandığında elde edilen tepe gerim değerleri arasındaki fark son derece barizdir (Şekil 10A). Testosteron uygulanan gonadektomize dişi ratların tepe gerime ulaşma süresi ise kontrol grubuna göre kısalmış olduğu (Şekil 10B) ancak elde edilen tepe gerim değerinin artmış olduğunu görmekteyiz (Şekil 7A). Gonadektomize erkek ratların dinlenme gerimine dönme süresi kontrol grubuna göre kısalmıştı, bu daha küçük bir tepe geriminden istirahat gerilimine dönmelerine bağlı olabilir (Şekil 11A). Çalışmamızda testosteron uygulanan dişi ratların dinlenme gerimine dönüş süresi ile kontrol grubu arasında ise anlamlı fark bulunamadı, ancak elde edilen tepe gerim kontrole göre daha yüksekti (Şekil 11B).

Maksimal tetanik kontraksiyonun yarısına ulaşmak için gerekli frekans değeri ( $f_{50}$ ), ve bu frekasta güç/zaman eğrisinin eğimi (mT) açısından gonadektomize erkek rat, testosteron uygulanan gonadektomize dişi rat ve ilgili kontrol grupları arasında anlamlı fark tesbit edilmedi (Şekil 12A ve B). Ancak bu değerlerin ortam kalsiyum düzeyi fizyolojik düzeyden 0.9mM düzeyine düşürülmesiyle olan değişimleri karşılaştırıldığında dişi kontrol grubunun  $f_{50}$  değeri değişimi erkek kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 13). Yine gonadektomize erkek ratların hipokalsemik ortamda  $f_{50}$  değerinde olan değişim kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Gonadektomi + estradiol uygulaması yapılan ratların hipokalsemik ortamda mT değerlerinde olan değişim ise hem kontrole hem de sadece gonadektomi yapılan ratlara göre yüksek olarak izlenmektedir (Şekil 15). Gonadektomi + testosteron uygulaması yapılan ratlarda ise  $f_{50}$  değerlerinin değişimi kontrole göre anlamlı olarak küçük bulundu.  $f_{50}$  değerlerinde olan değişimler değerlendirildiğinde testosteronun kas dokusunda kalsiyum değişikliklerine karşı stabilize edici etkisi olduğu,

testosteron uygulanan veya testosteron düzeyi yüksek olan gruplarda kalsiyum düzeyinin düşürülmesiyle oluşan f50 değişiminin diğer gruplara kıyasla küçük olduğu görülmektedir.

Dişi kontrol mT değerleri değişimi erkek kontrol grubunun değerlerine göre bariz şekilde yüksek olduğu (Şekil 15), yine gonadektomize erkek ve gonadektomi + estradiol uygulaması yapılan erkek ratların mT değişimlerinin kontrole göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmektedir. Hücrenin gevşemesine müsaade etmeyecek derecede yüksek frekansta uyarım, hücreden kalsiyumun tamamen uzaklaştırmasına fırsat vermemekte ve bir yandan sitoplazmaya sürekli yeni kalsiyum girişine neden olmaktadır. Kas bu şekilde maksimum tetanik kasılma gücüne ulaşmaktadır. mT yani maksimal tetanik gücün %50'sinin olduğu noktada güç/frekans eğrisinin eğimi esas olarak hücre içerisine kalsiyum salınımı ve sitoplazma içerisinden kalsiyumun geri alınımı hızlarına bağlıdır. Kalsiyumun hücreye giriş hızının artması mT değerini büyütürken, hücre içerisindeki kalsiyumun geri alınım hızının artması mT değerini küçültecektir. Kalsiyum düzenleyici proteinlerin artmış olması, kalsiyumun daha efektif kullanılmasına dolayısıyla kasın düşen kalsiyum düzeylerine rağmen fizyolojik kalsiyum konsantrasyonundakine benzer şekilde davranmasına, sonuç olarak hücrenin her iki ortamdaki kasılma parametreleri arasındaki farkın azalmasına neden olmuş olabilir. Gonadektomi yapılan dişi ratlarda mT değerleri değişimi kontrole göre yükselmekte ancak testosteron uygulanan gonadektomili dişi ratlarda bu değerler normale dönmektedir. Testosteron uygulamasının mT değerlerindeki değişimi azalttığı, hipokalseminin kas dokusu üzerindeki etkisini sınırlandırdığı görülmektedir.

Tetanik uyarıyla elde edilen maksimum güç (pT) değerleri açısından değerlendirdiğimizde erkek kontrol ratlarındaki pT değişiminin, dişi kontrole göre belirgin olarak küçük olduğu görülmektedir. Yine gonadektomize erkek ve gonadektomi + östrojen uygulaması yapılan erkek gruplarının pT değerlerinde olan değişim kontrole göre belirgin şekilde yüksektir. Gonadektomize dişi ratların pT değerlerindeki değişim artmakta ancak testosteron uygulamasıyla pT değerlerinde ki bu değişim azalmaktadır (Şekil 17). Testosteron uygulaması hipokalsemiye karşı doku direncini artırmakta, hipokalsemik ortamda pT değerlerinde olan değişimi minimize etmektedir. Diğer parametreleri sabit tutup, yalnızca ortamın kalsiyum konsantrasyonunun değiştirdiğimizde tetanik uyarıyla elde edilen maksimal kasılmanın hücre içerisine giren kalsiyum miktarına bağlı olduğu görülmektedir. Testosteronun kalsiyum düzenleyici proteinlerin sentezini artırıcı etkisi, testosteron verilen gruplarda kalsiyumun daha etkin kullanılmasında, yani kas hücresi kasılma performansının normokalsemik düzeylere yakın kalmasında pay sahibi olabilir.

Testosteron kasın hipokalsemik ortamda verdiği yanıtla normokalsemik ortamda verdiği yanıtlar arasındaki farkı azaltmakta yani kas dokusunda hipokalsemiye direnci artırmaktadır. Östradiolün etkileri ise testosteron kadar net değildir.

Elde ettiğimiz sonuçların halen net olarak anlaşılmamış olan iskelet kası kalsiyum metabolizması üzerinde, cinsiyetin ve sex steroidlerinin etkilerini anlamakta bir basamak olacağını ümit ediyoruz. İskelet kası kalsiyum metabolizmasının ve bu metabolizma üzerine cinsiyet ve sex steroidlerinin etkilerinin anlaşılması, uyarılabilir hücrelerin hipokalsemiye yanıtlarının ve bu yanıtarda rolü olan etkenlerin daha iyi anlaşılmasına, hipokalsemik semptomların önlenmesinde ve giderilmesinde daha etkin tedaviler geliştirilmesine olanak sağlayabilir.

## 6. ÖZET

**Amaç:** Postoperatif hipokalsemi tiroid cerrahisi sonrası sık görülen tedavi süresinin uzamasına, işgücü kaybına ve sağlık harcamalarında artışa neden olan bir komplikasyondur. Postoperatif hipokalsemi sıklıkla bayan hastalarda görülmekte, erkek hastalarda ise son derece nadir görülmektedir. Çalışmamızda cinsiyetin ve sex steroidlerinin hipokalseminin semptomatik hale gelmesi üzerindeki rolünü deneysel olarak araştırmayı hedefledik.

**Yöntem:** Çalışmamızda ağırlıkları 250 ila 300 gr. Arasında değişen 19 erkek ve 19 dişi toplam 38 adet Sprague-Dawley türü rat kullanıldı. Deney hayvanları 6 gruba ayrıldı. Cinsiyetin etkisini araştırmak amacıyla herhangi bir işlem yapılmayan erkek (E) ve dişi (D) grupları kullanıldı. Sex steroidlerinin etkilerini araştırmak amacıyla gonadektomi yapılarak sex steroidlerinden yoksun bırakılan Erkek (E-) ve dişi (D-) grupları, gonadektomi ve karşı cins sex hormonu (Estradiol) uygulaması yapılan erkek (EX), gonadektomi ve karşı cins sex hormonu (testosteron) uygulama yapılan dişi (DX) grupları kullanıldı. Deney hayvanları 30 gün takip süresi sonunda sakrifiye edilerek sol alt extremitelerinden soleus kası flepleri hazırlandı. Hazırlanan flepler organ banyosuna yerleştirilerek 0.9 mM  $Ca^{+2}$  ve 1.8 mM  $Ca^{+2}$  konsantrasyonundaki ortamlarda kontraksiyon ve tetanik kontraksiyon kayıtları alındı. Kontraksiyon kayıtlarından tepe gerim (PT), kasılma süresi (TC), gevşeme süresi (TR), kasılma hızı (+dP/dt) ve gevşeme hızı (-dP/dt) değerleri elde edildi. Tetanik kontraksiyon kayıtlarından tepe kasılma (pT), Tetanik kontraksiyon gücünün yarısına ulaşmak için gerekli uyarı frekansı (f50), f50 noktasında kontraksiyon/zaman eğrisinin eğimi (mT) değerleri elde edildi. Elde edilen sonuçlar istatistiki olarak karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Çalışmamızda kalsiyum düzeylerindeki değişikliğe erkeklerin yanıtları ile dişilerin yanıtlarını karşılaştırdığımızda, erkeklerin verdiği yanıtların kalsiyum düzeyindeki değişimden dişilere kıyasla daha az etkilenmektedir (df50=%6.26, dmT=%10.89, dpT=-0.35). Buna karşın dişilerin hipokalsemik ve normokalsemik ortamlarda verdiği yanıtlar arasında anlamlı farklılık olduğu (df50=%36.83, dmT=23.11, dpT= -23.12) görülmektedir (P<0.05). Gonadektomi yapılan erkek hayvanlarda bu farkın artarken (df50=%13.72, dmT=%15.72, dpT=-2.26) testosteron verilen gonadektomili dişi hayvanlarda ise bu fark anlamlı olarak azalmıştır (df50=%3.52, dmT=%15.03, dpT=-5.73).

**Sonuç:** Testosteron kasın hipokalsemik ortamda verdiği yanıtlarla normokalsemik ortamda verdiği yanıtlar arasındaki farkı azaltmakta yani kas dokusunda hipokalsemiye direnci artırmaktadır. Östradiolün etkileri ise testosteron kadar belirgin değildir.

**Anahtar kelimeler:** Postoperatif hipokalsemi, Rat, iskelet kası, hipokalsemi, cinsiyet, testosteron, östrojen

## 7. SUMMARY

**Aim:** Postoperative hypocalcemia is a well known complication of thyroid surgery which prolongs hospital stay, causes loss of labor and an increase in healthcare costs. While frequent in female patients, postoperative hypocalcemia is rarely encountered in male patients. The aim of this study is to investigate effects of gender and sex steroids on hypocalcemic symptoms.

**Methods:** 19 Male 19 Female, a total of 38 Sprague-Dawley rats weighing between 250 and 300 gr. was divided in 6 groups. To investigate effect of gender, male (E) and Female (D) groups was used. No additional procedure was applied on these groups. To investigate the effect of sex steroid absence, gonadectomized and sex steroid deprived male (E-) and female (D-) rats were used. Gonadectomized and estradiol applied male rats (EX) and gonadectomized and testosterone applied female rats (DX) were used to observe effect of sex steroid on opposite sexes. At the end of 30 day followup rats were sacrificed and soleus muscle flaps were prepared from lower left extremity. The soleus flaps prepared were placed in organ bath and stimulated with needle electrode in varying frequencies. Contraction and tetanic contraction results were recorded. Peak tension (PT), contraction time (TC), relaxation time (TC), contraction speed (+dP/dt) and relaxation speed datas were acquired from contraction recordings. Peak tetanic tension (pT), stimuli frequency needed for half of pT (f50) and slope of tetanic contraction/time curve (mT) datas were obtained from tetanic contraction recordings. Acquired results were statistically evaluated.

**Results:** Compared to results of females results of males were minimally effected from change of calcium concentration (df50=%6.26, dmT=%10.89, dpT=-0.35). Contrary to males there is a significant change in responses of female muscle flaps concomitant with calcium concentration change (df50=%36.83, dmT=23.11, dpT= -23.12). While the change in values is increased gonadectomized males (df50=%13.72, dmT=%15.72, dpT=-2.26), change in response values were significantly decreased in testosterone applied gonadectomized female rats (df50=%3.52, dmT=%15.03, dpT=-5.73).

**Conclusions:** Testosterone minimizes the changes in muscle responses in hypocalcemic conditions compared to normocalcemic conditions. In other words testosterone increases resistance of muscle tissue for hypocalcemia. Effects of estradiol is not as clear as testosterone.

**Keywords:** Postoperative hypocalcemia, Rat, Skeletal muscle, Hypocalcemia, Testosterone, Estradiol

## 8. KAYNAKLAR

1. Erbil Y, Barbaros U, Temel B, Turkoglu U, İşsever H, Bozbora A, Ozarmağan S, Tezelman S. The impact of age, vitamin D3 level, and incidental parathyroidectomy on postoperative hypocalcemia after total or near total thyroidectomy. *Am J Surg.* 2009 Apr;197(4):439-46.
2. Del Rio P, Arcuri MF, Ferreri G, Sommaruga L, Sianesi M. The utility of serum PTH assessment 24 hours after total thyroidectomy. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005 Apr;132(4):584-6.
3. Efremidou EI, Papageorgiou MS, Liratzopoulos N, Manolas KJ. The efficacy and safety of total thyroidectomy in the management of benign thyroid disease: a review of 932 cases. *Can J Surg.* 2009 Feb;52(1):39-44.
4. Townsend C.M, Beauchamp R.D, Evers B.M, Mattox K.L. *Sabiston Textbook of Surgery.* 18th edition: Saunders, an imprint of Elsevier 2007; 951
5. Quiros RM, Pesce CE, Wilhelm SM, Djuricin G, Prinz RA. Intraoperative parathyroid hormone levels in thyroid surgery are predictive of postoperative hypoparathyroidism and need for vitamin D supplementation. *Am J Surg.* 2005 Mar;189(3):306-9.
6. Erbil Y, Bozbora A, Ozbey N, İşsever H, Aral F, Ozarmagan S, Tezelman S. Predictive value of age and serum parathormone and vitamin D3 levels for postoperative hypocalcemia after total thyroidectomy for nontoxic multinodular goiter. *Arch Surg.* 2007 Dec;142(12):1182-7
7. Demeester-Mirkine N, Hooghe L, Van Geertruyden J, De Maertelaer V. Hypocalcemia after thyroidectomy. *Arch Surg.* 1992 Jul;127(7):854-8.
8. Bourrel C, Uzzan B, Tison P, Despreaux G, Frachet B, Modigliani E, Perret GY. Transient hypocalcemia after thyroidectomy. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1993 Jul;102(7):496-501.
9. Yamashita H, Murakami T, Noguchi S, Shiiba M, Watanabe S, Uchino S, Kawamoto H, Toda M, Murakami N. Postoperative tetany in Graves disease: important role of vitamin D metabolites. *Ann Surg.* 1999 Feb;229(2):237-45.
10. Moore C, Lampe H, Agrawal S. Predictability of hypocalcemia using early postoperative serum calcium levels. *J Otolaryngol* 2001;30(5):266-70.
11. Lindblom P, Westerdahl J, Bergenfelz A. Low parathyroid hormone levels after thyroid surgery: a feasible predictor of hypocalcemia. *Surgery* 2002;131(5):515-20.
12. Bergamaschi R, Becouarn G, Ronceray J, Arnaud JP. Morbidity of thyroid surgery. *Am J Surg.* 1998 Jul;176(1):71-5.
13. Bhattacharyya N, Fried MP. Assessment of the morbidity and complications of total thyroidectomy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;128:389 –92.
14. Thomusch O, Machens A, Sekulla C, Ukkat J, Lippert H, Gastinger I, Dralle H. Multivariate analysis of risk factors for postoperative complications in benign goiter surgery: prospective multicenter study in Germany. *World J Surg.* 2000 Nov;24(11):1335-41.
15. Abboud B, Sargi Z, Akkam M, Sleilaty F. Risk factors for postthyroidectomy hypocalcemia. *J Am Coll Surg.* 2002 Oct;195(4):456-61.
16. Reeve T, Thompson NW. Complications of thyroid surgery: how to avoid them, how to manage them, and observations on their possible effect on the whole patient. *World J Surg.* 2000;24:971–5.
17. Rosato L, Avenia N, Bernante P, De Palma M, Gulino G, Nasi PG, Pelizzo MR, Pezzullo L. Complications of thyroid surgery: analysis of a multicentric study on



- 14,934 patients operated on in Italy over 5 years. *World J Surg.* 2004 Mar;28(3):271-6.
18. Miccoli P, Minuto MN, Panicucci E, Cetani F, D'Agostino J, Vignali E, Picone A, Marcocci C, Berti P. The impact of thyroidectomy on parathyroid glands: a biochemical and clinical profile. *J Endocrinol Invest.* 2007 Sep;30(8):666-71
  19. Toniato A, Boschin IM, Piotta A, Pelizzo M, Sartori P. Thyroidectomy and parathyroid hormone: tracing hypocalcemia-prone patients. *Am J Surg.* 2008 Aug;196(2):285-8. Epub 2008 May 7.
  20. Glinoe D, Andry G, Chantrain G, Samil N. Clinical aspects of early and late hypocalcaemia after thyroid surgery. *Eur J Surg Oncol.* 2000 Sep;26(6):571-7.
  21. Husein M, Hier MP, Al-Abdulahadi K, Black M. Predicting calcium status post thyroidectomy with early calcium levels. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002 Oct;127(4):289-93.
  22. Adams J, Andersen P, Everts E, Cohen J. Early postoperative calcium levels as predictors of hypocalcemia. *Laryngoscope.* 1998 Dec;108(12):1829-31.
  23. Di Fabio F, Casella C, Bugari G, Iacobello C, Salerni B. Identification of patients at low risk for thyroidectomy-related hypocalcemia by intraoperative quick PTH. *World J Surg.* 2006 Aug;30(8):1428-33.
  24. Moore FD. Oral calcium supplement to enhance early hospital discharge after bilateral surgical treatment of the thyroid gland or exploration of the parathyroids glands. *J Am Coll Surg* 1994;178:11–16.
  25. Güllüoğlu BM, Manukyan MN, Cingi A, Yeğen C, Yalin R, Aktan AO. Early prediction of normocalcemia after thyroid surgery. *World J Surg.* 2005 Oct;29(10):1288-93
  26. Akgün Y.A, Öngören A.U., Kuru S. Acar E., Cengiz A., Gülhan D., Aslanmirza M.Y. Tetany after thyroid surgery. *Turkish Medical Journal* 2007, 1:80-85
  27. Roh JL, Park CI. Routine oral calcium and vitamin D supplements for prevention of hypocalcemia after total thyroidectomy. *Am J Surg.* 2006 Nov;192(5):675-8.
  28. Proye C, Carnaille B, Maynou C, Bizard JP, Gilliot P, Lariviere J, Martinot JC, Monnin C, Vallier F. The parathyroid risk in thyroid surgery. Argument against the early postoperative prescription of vitamin D. Experience with 729 thyroidectomies in 1988. *Chirurgie.* 1990;116(6-7):493-500.
  29. Bove A, Bongarzone G, Dragani G, Serafini F, Di Iorio A, Palone G, Stella S, Corbellini L. Should female patients undergoing parathyroid-sparing total thyroidectomy receive routine prophylaxis for transient hypocalcemia? *Am Surg.* 2004 Jun;70(6):533-6
  30. Celichowski J, Drzymala H. Differences Between Properties Of Male And Female Motor Units In The Rat Medial Gastrocnemius Muscle. *J Physiol Pharmacol.* 2006 Mar;57(1):83-93.
  31. Brown M. Skeletal muscle and bone: effect of sex steroids and aging. *Adv Physiol Educ.* 2008; 32: 120–126.
  32. Ramamani A, Aruldas M M, Govindarajulu P. Impact of testosterone and oestradiol on region specificity of skeletal muscle-ATP, creatine phosphokinase and myokinase in male and female Wistar rats. *Acta Physiol Scand* 1999, 166, 91±97
  33. Golden KL, Marsh JD, Jiang Y. Testosterone regulates mRNA levels of calcium regulatory proteins in cardiac myocytes. *Horm Metab Res.* 2004 Apr;36(4):197-202
  34. Golden KL, Marsh JD, Jiang Y. Castration reduces mRNA levels for calcium regulatory proteins in rat heart. *Endocrine.* 2002 Dec;19(3):339-44
  35. Er F, Michels G, Brandt MC, Khan I, Haase H, Eicks M, Lindner M, Hoppe UC. Impact of testosterone on cardiac L-type calcium channels and Ca<sup>2+</sup> sparks: acute

- actions antagonize chronic effects. *Cell Calcium*. 2007 May;41(5):467-77. Epub 2006 Nov 7
36. Berne R.M, Levy M.N, Koepper B.M, Stanton B.A. Fizioloji. Çeviri: Türk Fiziyojik Bilimler Derneği 5. baskı: Güneş Tıp Kitapevleri 2008; 223-245
  37. Estrada M, Liberona J L, Miranda M, Jaimovich E. Aldosterone- and testosterone-mediated intracellular calcium response in skeletal muscle cell cultures. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 279: E132–E139, 2000.
  38. Kobori M, Mamuro T. Effects Of Gonadectomy And Estrogen Administration On Rat Skeletal Muscle. *Clin Orthop Relat Res*. 1989 Jun;(243):306-11.
  39. Tsang S, Wong SS, Wu S, Kravtsov GM, Wong TM. Testosterone-augmented contractile responses to  $\alpha$ 1- and  $\beta$ 1-adrenoceptor stimulation are associated with increased activities of RyR, SERCA, and NCX in the heart. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2009 Apr;296(4):C766-82.
  40. Dirksen RT. Sarcoplasmic reticulum-mitochondrial through-space coupling in skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2009 Jun;34(3):389-95.
  41. Boncompagni S, Rossi A.E, Micaroni M, Beznoussenko G.V, Polishchuk R.S, Dirksen R.T, Protasi F. 2009. Mitochondria are linked to calcium stores in striated muscle by developmentally regulated tethering structures. *Mol. Biol. Cell*, 20: 1058–1067.
  42. Gillis JM. Inhibition of mitochondrial calcium uptake slows down relaxation in mitochondria-rich skeletal muscles. *J Muscle Res Cell Motil*. 1997 Aug;18(4):473-83.